

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESLENME VE DİYETETİK YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

AVOKADO (*Persea americana*) VE OĞULOTU (*Melissa officinalis*) FONKSİYONEL BESİNLERİNİN, *Caenorhabditis elegans* TERMOTOLERANSI ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

NAZMİ SAVAŞ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Serdal ÖĞÜT

II. DANIŞMAN
Prof. Dr. Abdullah OLGUN

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından SBF-18001 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2018

KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Nazmi SAVAŞ tarafından hazırlanan “Avokado (*Persea americana*) ve Oğulotu (*Melissa officinalis*) Fonksiyonel Besinlerinin, *Caenorhabditis elegans* Termotoleransı Üzerine Etkilerinin İncelenmesi” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 27/11/2018

Üye (T.D.) : Doç. Dr. Serdal ÖĞÜT
Üye : Dr. Öğr. Üy. Murat Kemal AVCI
Üye : Dr. Öğr. Üy. Şükrü GÜLEÇ
Üye (Yedek) : Doç. Dr. Dide KILINÇ
Üye (Yedek) : Dr. Öğr. Üy. Mümin POLAT

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsününtarih vesayılı oturumunda alınannolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet CEYLAN
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez çalışmam boyunca desteğini benden esirgemeyen, lisansüstü eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım danışman hocam Doç. Dr. Serdal ÖĞÜT'e,

Lisansüstü eğitimim süresince, yine desteklerini benden esirgemeyen tüm ADÜ Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı'ndaki öğretim üyelerine ve tez dönemimde bilgi ve tecrübesiyle bana yardımcı olan ikinci danışman hocam, İstinye Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanı Prof. Dr. Abdullah OLGUN'a, Eczacılık Fakültesi asistanlarına ve İstinye Üniversitesi'nin yardımsever laboratuvar personellerine,

Tez çalışmam esnasında bitki ekstraherimin teminini sağlayan Prof. Dr. Ayşegül KÖROĞLU GÜVENÇ'e ve tezimin istatistiki verilerinin hesaplanmasında yardımlarını benden esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Murat Kemal AVCI'ya,

İstanbul'daki laboratuvar çalışmalarım ve deneylerimin her aşamasında bana yardımcı olan meslektaşım Diyetisyen Ece BOZTEPE'ye, yine desteklerini üzerimde hissettiğim değerli arkadaşım Doktor Betül KIRLANGIÇ'a ve kardeşim Hemşire Rümeysa SAVAŞ'a,

Ve maddi manevi her anlamda, her zaman yanımda destekçim olan, sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
TABLolar DİZİNİ.....	ix
ÖZET.....	xi
ABSTRACT.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. <i>Caenorhabditis elegans</i> Model Organizması Hakkında Bilgiler ve Özellikleri.....	2
2.1.1. <i>C.elegans</i> ve Yaşam Süresi Çalışmaları.....	6
2.1.2. <i>C.elegans</i> 'ta Sıcak Stresi ve Termotolerans.....	7
2.2. Fonksiyonel Besinler ve Antioksidanlar.....	10
2.2.1. Fonksiyonel Besinlerin Hastalıklar Üzerindeki Etkileri.....	15
2.2.2. Avokado (<i>Persea americana</i>) Meyvesi Hakkında Bilgiler.....	16
2.2.2.1. Avokado (<i>Persea americana</i>) meyvesi ve hastalıkları tedavi etme (tıbbi) özelliği ile ilgili literatür çalışmaları.....	19
2.2.2.1.1. Avokadonun yüksek glukoz seviyesi üzerindeki etkisi.....	22
2.2.2.1.2. Avokadonun yüksek lipid profili üzerindeki etkisi.....	23
2.2.2.1.3. Avokadonun obezite üzerindeki etkisi.....	25
2.2.2.1.4. Avokadonun yüksek kan basıncı üzerindeki etkisi.....	27
2.2.2.1.5. Avokadonun ateroskleroz üzerindeki etkisi.....	29
2.2.2.1.6. Avokadonun antioksidan etkisi.....	30
2.2.3. Oğulotu (<i>Melissa officinalis</i>) Bitkisi Hakkında Bilgiler.....	31
2.2.3.1. Oğulotu (<i>Melissa officinalis</i>) bitkisi ve hastalıkları tedavi etme (tıbbi) özelliği ile ilgili literatür çalışmaları.....	35
2.2.3.1.1. Oğulotunun antimikrobiyal aktivitesi.....	35
2.2.3.1.2. Oğulotunun antioksidan aktivitesi.....	37
2.2.3.1.3. Oğulotunun antitümör aktivitesi.....	40

3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	42
3.1. Materyal.....	42
3.1.1. Kullanılan Laboratuvar Malzemeleri ve Cihazlar.....	42
3.1.2. Kullanılan Kimyasallar.....	42
3.2. Deney Yöntemi.....	42
3.2.1. NGM (Nematode Growth Medium) Hazırlanması ve Avokado Bitki Ekstresinin NGM'lere Eklenmesi.....	42
3.2.2. NGM (Nematode Growth Medium) Hazırlanması ve Oğulotu Bitki Ekstresinin NGM'lere Eklenmesi.....	43
3.2.3. <i>E.coli</i> OP50 Suşunun Hazırlanması.....	43
3.2.4. Avokado Bitki Ekstreli NGM'lere <i>E.coli</i> Ekimi.....	44
3.2.5. Oğulotu Bitki Ekstreli NGM'lere <i>E.coli</i> Ekimi.....	45
3.2.6. FUDR (Fluorodeoxyuridine) Maddesinin İlavesi.....	45
3.2.7. Senkronizasyon (Dekontaminasyon) Aşaması.....	46
3.2.8. Termotolerans Deneyi ve Deneyin Genel Takibi.....	46
3.2.8.1. FudR'siz termotolerans deneyi.....	46
3.2.8.2. Ekstresiz termotolerans deneyi.....	47
3.2.8.3. Avokado bitki ekstreli termotolerans deneyi.....	47
3.2.8.4. Oğulotu bitki ekstreli termotolerans deneyi.....	48
3.3. İstatistiksel Analizler.....	48
4. BULGULAR.....	49
4.1. Oğulotu Termotolerans Deneyi Spss Analiz Yorumları.....	51
4.2. Avokado Termotolerans Deneyi Spss Analiz Yorumları.....	62
5. TARTIŞMA.....	70
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	78
KAYNAKLAR.....	80
ÖZGEÇMİŞ.....	95

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ILSI	: Uluslararası Yaşam Bilimleri Enstitüsü
ADA	: Amerikan Diyetetik Derneği
diğ.	: Diğerleri
ark.	: Arkadaşları
vb.	: Ve benzeri
mm	: Milimetre
CLA	: Konjuge Linoleik Asit
HDL	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
VLDL	: Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
KKH	: Koroner Kalp Hastalığı
MUFA	: Tekli Doymamış Yağ Asitleri
EPA	: Eikosapentaenoik Asit
DHA	: Dokosaheksaenoik Asit
FOS	: Fruktooligosakkarit
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
BKI	: Beden Kitle İndeksi
g	: Gram
kcal	: Kilokalori
α-	: Alfa
β-	: Beta
γ-	: Gama
δ-	: Delta
HIV	: İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü
DM	: Diyabetes Mellitus

GABA	: Gamma Aminobütirik Asit
kg	: Kilogram
HbA1c	: Glikozillenmiş Hemoglobin
ml	: Mililitre
TBARS	: Tiyoarbitürik Asit Reaktif Maddeleri
Tg	: Trigliserit
PKB	: Protein Kinaz B
GLUT-2	: Glukoz Transporter-2
mg	: Miligram
ApoA1	: Apolipoprotein A1
TFP	: Total Yağ Kitlesi
mRNA	: Haberci Ribonükleik Asit
HCD	: Yüksek Yağlı Diyet
KVH	: Kardiyovasküler Hastalıklar
HR	: Kalp Atım Hızı
BP	: Kan Basıncı
Ca	: Kalsiyum
CRP	: C-reaktif Protein
PT	: Protrombin Zamanı
APPT	: Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
NO	: Nitrik Oksit
BHA	: Bütillenmiş Hidroksianizol
BHT	: Bütillenmiş Hidroksitoluen
GRAS	: Genellikle Güvenilir Kabul Edilen
HSV-1	: Herpes Simpleks Virüsü Tip-1
HSV-2	: Herpes Simpleks Virüsü Tip-2

C. elegans	: <i>Caenorhabditis elegans</i>
P. americana	: <i>Persea americana</i>
M. officinalis L	: <i>Melissa officinalis</i> Lamiaceae
OD değeri	: Optik Dansite (Yoğunluk) değeri
FUdR	: Fluorodeoxyuridine
E. coli	: <i>Escherichia coli</i>
NGM	: Nematod Büyüme Ortamı
CGC	: <i>Caenorhabditis</i> Genetik Merkezi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Genetik Bir Organizma Olarak <i>Caenorhabditis elegans</i>	3
Şekil 2. <i>C. elegans</i> 'ın Yaşam Döngüsü.....	3
Şekil 3. <i>C. elegans</i> 'ın Mikroskoptan Sindirim Sistemi Yapısı.....	4
Şekil 4. <i>C. elegans</i> 'ın Sinir Sistemi Anatomisinin İncelenmesi.....	5
Şekil 5. <i>Persea americana</i> (Avokado) Bitkisi.....	17
Şekil 6. <i>P. americana</i> (Avokado) Bitkisinin Etkileri	20
Şekil 7. <i>Melissa officinalis</i> (Oğulotu) Bitkisi	32
Şekil 8. <i>M. officinalis</i> (Oğulotu) Bitkisinin Kimyasal Bileşimi.....	34
Şekil 9. <i>M. officinalis</i> (Oğulotu) Bitkisinin Çeşitli Özellikleri.....	35
Şekil 10. FudR'siz Termotolerans Deney Sonuç Grafiği.....	49
Şekil 11. Ekstresiz Termotolerans Deney Sonuç Grafiği.....	49
Şekil 12. Avokado Bitki Ekstreli Termotolerans Deney Sonuç Grafiği.....	50
Şekil 13. Oğulotu Bitki Ekstreli Termotolerans Deney Sonuç Grafiği.....	50
Şekil 14. Oğulotu Ekstrelerinin <i>C.elegans</i> Termotoleransı Üzerine Etkisini Belirlemeye Yönelik Analiz Sonuçları.....	54
Şekil 15. Avokado Ekstrelerinin <i>C.elegans</i> Termotoleransı Üzerine Etkisini Belirlemeye Yönelik Analiz Sonuçları.....	65

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Bazı Fonksiyonel Besinler, Ana Bileşenleri, Kaynakları ve Potansiyel Sağlık Yararları	11
Tablo 2. <i>Persea americana</i> Bitki Sistematığı.....	16
Tablo 3. Avokadoda En Fazla Bulunan Biyoaktif Bileşenler Listesi.....	18
Tablo 4. <i>Melissa officinalis</i> Bitki Sistematığı	31
Tablo 5. Deney Gruplarının Final Konsantrasyonları İçin, NGM'lere Eklenen <i>E.coli</i> ve Avokado Bitki Ekstresi Miktarları.....	44
Tablo 6. Deney Gruplarının Final Konsantrasyonları İçin, NGM'lere Eklenen <i>E.coli</i> ve Oğulotu Bitki Ekstresi Miktarları.....	45
Tablo 7. Oğulotu Ekstrelerinin <i>C.elegans</i> Termotoleransı Üzerindeki Etkisine Yönelik Araştırmadan Elde Edilen Ham Veriler.....	51
Tablo 8. Oğulotu Ekstrelerinin <i>C.elegans</i> Termotoleransına Etkisini Belirlemede Elde Edilen Verilerin Normalite Testi Sonuçları.....	52
Tablo 9. Oğulotu Ekstrelerinin <i>C.elegans</i> Termotoleransı Üzerine Etkisine Yönelik Test Gruplarının Varyans Homojenitelerine Ait Test Sonuçları.....	53
Tablo 10. Oğulotu Ekstrelerinin <i>C.elegans</i> Termotoleransı Üzerine Etkisi İle İlgili Tanımlayıcı Veriler.....	53
Tablo 11. Oğulotu ANOVA Testi.....	55
Tablo 12. Oğulotu Ekstrelerinin <i>C.elegans</i> Termotoleransı Üzerine Etkilerinin Belirlenmesinde TUKEY Testi Sonuçları.....	56
Tablo 13. Oğulotu Ekstrelerinin <i>C.elegans</i> Termotoleransı Üzerine Etkilerinin Belirlenmesinde BONFERRONI Testi Sonuçları.....	57
Tablo 14. OğulotuKontrol (grup1) ve Oğulotu5 (grup2) Grupları Arasında Bağımsız Örneklem t-Testi Sonuçları.....	58
Tablo 15. OğulotuKontrol (grup1) ve Oğulotu50 (grup3) Grupları Arasında Bağımsız Örneklem t-Testi Sonuçları.....	59
Tablo 16. OğulotuKontrol (grup1) ve Oğulotu200 (grup4) Grupları Arasında Bağımsız Örneklem t-Testi Sonuçları.....	59
Tablo 17. Oğulotu5 (grup2) ve Oğulotu50 (grup3) Grupları Arasında Bağımsız Örneklem t-Testi Sonuçları.....	60

Tablo 18. Oğulotu5 (grup2) ve Oğulotu200 (grup4) Grupları Arasında Bağımsız Örneklem t-Testi Sonuçları.....	61
Tablo 19. Oğulotu50 (grup3) ve Oğulotu200 (grup4) Grupları Arasında Bağımsız Örneklem t-Testi Sonuçları.....	61
Tablo 20. Avokado Ekstrelerinin <i>C.elegans</i> Termotoleransı Üzerindeki Etkisine Yönelik Araştırmadan Elde Edilen Ham Veriler.....	62
Tablo 21. Avokado Ekstrelerinin <i>C.elegans</i> Termotoleransına Etkisini Belirlemede Elde Edilen Verilerin Normalite Testi Sonuçları.....	63
Tablo 22. Avokado Ekstrelerinin <i>C.elegans</i> Termotoleransı Üzerine Etkisine Yönelik Test Gruplarının Varyans Homojenitelerine Ait Test Sonuçları.....	63
Tablo 23. Avokado Ekstrelerinin <i>C.elegans</i> Termotoleransı Üzerine Etkisi İle İlgili Tanımlayıcı Veriler.....	64
Tablo 24. Avokado ANOVA Testi.....	65
Tablo 25. Avokado Ekstrelerinin <i>C.elegans</i> Termotoleransı Üzerine Etkilerinin Belirlenmesinde TUKEY Testi Sonuçları.....	66
Tablo 26. AvokadoKontrol (grup1) ve Avokado75 (grup2) Grupları Arasında Bağımsız Örneklem t-Testi Sonuçları.....	67
Tablo 27. AvokadoKontrol (grup1) ve Avokado150 (grup3) Grupları Arasında Bağımsız Örneklem t-Testi Sonuçları.....	68
Tablo 28. Avokado75 (grup2) ve Avokado150 (grup3) Grupları Arasında Bağımsız Örneklem t-Testi Sonuçları.....	69

ÖZET

AVOKADO (*PERSEA AMERICANA*) VE OĞULOTU (*MELISSA OFFICINALIS*) FONKSİYONEL BESİNLERİNİN, *CAENORHABDITIS ELEGANS* TERMOTOLERANSI ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Savaş N. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Beslenme ve Diyetetik Programı Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2018.

Yaşlanma neredeyse tüm organizmalar için kaçınılmaz bir süreçtir ve yaşlanma süreci daha öncesinde; genomik DNA, proteinler ve lipidler gibi hücrenin makromoleküllerine verilen hasarın neden olduğu pasif entropik doku bozulması süreci olarak tanımlanmıştır. Tıp dünyası ise uzun yıllardır yaşam kalitesini ve yaşam süresini arttırmaya yönelik çeşitli araştırmalar ve çalışmalar yapmaktadır. Yaşlanma arttıkça beraberinde, diğer hastalıklara (obezite, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, kanser, depresyon, Alzheimer vb.) yakalanma riski de artmaktadır. Bu yüzden yaşlanma ve yaşam süresi alanında yapılmış ve yapılacak olan çalışmalar da, bu hastalıkların önlenmesi açısından son derece büyük önem taşımaktadır. *C.elegans* nematodu, özellikle yaşlanmanın genetik yönlerini incelemek ve potansiyel olarak ömrü uzatan maddelerin (antioksidanlar dahil) ömür uzunluğu üzerindeki etkilerini test etmek için, tıpta ve biyolojide yaygın olarak kullanılan bir model organizmadır. Termotolerans (sıcak strese karşı dayanıklılık) çalışmaları ise, bu tür model organizmalarda yaşam süresi analizi çalışmalarının ilk basamağı ve kısa süreliisidir. Bazı fonksiyonel besinlerin de, *C.elegans*'ta termotolerans sağladığı ve yaşam süresini uzattığı kanıtlanmıştır. Antioksidanlardan zengin, fonksiyonel özelliklere de sahip Avokado (*Persea americana*) ve Oğulotu (*Melissa officinalis*) bitkilerinin metanollü ekstraktları, çeşitli konsantrasyonlarda hazırlanıp, kontrol grupları ile birlikte, canlılar üzerinde bir ısı stresi de oluşturularak (35°C'de) test edilmiştir. Bu bitkilerin *C.elegans* termotoleransı üzerindeki etkileri, yapılan bu tez çalışması ile incelenmiş olup, sonuçları yaşam süresi üzerine de yorumlanmış ve değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Avokado, *Caenorhabditis elegans*, oğulotu, termotolerans, yaşam süresi

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF AVOKADO (*PERSEA AMERICANA*) AND LEMON BALM (*MELISSA OFFICINALIS*) FUNCTIONAL FOODS ON THERMOTOLERANCE OF *CAENORHABDITIS ELEGANS*

Savaş N. Aydın Adnan Menderes University Institute of Health Sciences Nutrition and Dietetics Graduate Program, Master Thesis, Aydın, 2018.

Aging is an inevitable process for almost all organisms, and the aging process has previously been described as a process of passive entropic tissue deterioration caused by damage to the macromolecules of the cell, such as genomic DNA, proteins, and lipids. The medical world has been conducting various researches and studies in order increase the quality of life and lifespan for many years. As the aging increases, the risk of developing other diseases (obesity, diabetes, cardiovascular diseases, cancer, depression, Alzheimer etc.) is also increasing. Therefore, studies that have been done and that will be done in the field of aging and lifespan are extremely important for the prevention of these diseases. The *C.elegans* nematode is a model organism commonly used in medicine and biology to study the genetic aspects of aging, and to test its potential effects of life-prolonging substances (including antioxidants) on lifespan. Thermotolerance (resistance to heat stress) studies are the first step and short duration of lifespan analysis studies in such model organisms. Some functional foods have also been proved to provide thermotolerance and give rise to prolong life. Methanol extracts of Avocado (*Persea americana*) and Lemon balm (*Melissa officinalis*) plants, rich in antioxidants and also have functional properties, were prepared in various concentrations and tested together with control groups, by creating a heat stress on living organisms (at 35°C). The effects of these plants on the thermotolerance of *C.elegans* have been examined in this thesis and the results of them have been interpreted and evaluated on lifespan.

Key words: Avocado, *Caenorhabditis elegans*, lemon balm, lifespan, thermotolerance

1. GİRİŞ

Caenorhabditis elegans (*C.elegans*), yaklaşık 1 mm uzunluğunda mikroskobik bir nematod olup, yaşlanma genetiği ve tıp alanındaki çalışmalarda kullanılan, doğada toprakta, ağaç diplerinde serbest olarak yaşayan, şeffaf görünümlü, patojen olmayan bir model organizmadır. Laboratuvar koşullarında N2 vahşi (yabani) tip olanları, ortalama 18 gün civarı yaşayabilmektedir (Hertweck ve ark., 2003; Savaş ve ark., 2018). Yetişkin *C. elegans* solucanları, 3 günlük bir yaşam süreci sonunda hermafroditlerini kendi kendine dölleyebilmekte ve 20°C’de kültürlendikleri zaman, ortalama 18-20 günlük bir yaşam süresi elde etmektedirler. Bu nematod, diğer canlı organizmalarda gözlenenleri anımsatan bir dizi yaşa bağlı değişiklikleri de beraberinde göstermektedir (Anders ve ark., 2006). Çeşitli bilimsel araştırmalarda kullanılmasının en önemli sebeplerinden biri de, genlerinin insan genlerine çok (yaklaşık %83 civarı) benzemesidir (Lai ve ark., 2000; O.Sin ve ark., 2014). Ayrıca apoptozun (programlı hücre ölümü) moleküler temellerinin keşfi de *C. elegans* model organizmasının kullanılması sayesinde mümkün olabilmektedir (Singh ve ark., 2017).

Fonksiyonel besinler ise, normal diyetimizde tüketebileceğimiz geleneksel gıdalara benzer olan fakat normal besin gereksinimlerini karşılayanın yanında, çeşitli farklı etkenlerle vücutta hastalık oluşma riskini azaltıcı, sağlığı ve insan iyilik halini geliştirici özelliklere de sahip olan, yapısında birçok fonksiyonel bileşen de barındıran besin çeşididir (Erbaş, 2006; Kasnak, 2015). Bu fonksiyonel bileşenlerden olan fitokimyasallar, bitkisel kaynaklı fonksiyonel besinler grubuna girmektedir. ‘‘Fito’’ Yunanca’da bitki olarak adlandırılmakta olup, ‘‘kimyasal’’ ise bitkilerde doğal olarak oluşan kimyasal bileşiklerdir. Bu fitokimyasallar; kanser, diyabet, koroner kalp hastalığı, yüksek tansiyon, enflamatuvar, viral ve parazitik hastalıklar, yaşlılık, depresyon ve psikolojik rahatsızlıklar gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde yararlı etkiler sağlamakta olup birçok araştırmacının dikkatini çekmeye ve bilimsel araştırmalara da konu olmaya devam etmektedir (Dillard ve German, 2000; Coşkun, 2005).

Sağlık üzerine yararlı etkileri uzun yıllardır insanlar tarafından bilinen ve bu yararları son zamanlarda çeşitli bilimsel çalışmalarla da desteklenen fonksiyonel besinler, canlıların yaşam süresi üzerinde de olumlu etkiler göstermektedir (Aiello ve ark., 2016). Avokado (*Persea americana*) ve oğulotu (*Melissa officinalis*) fonksiyonel bitki ekstraktlarının, *C.elegans* model organizmasının termotoleransı (sıcak strese karşı dayanıklılık) ve yaşam süresi üzerine etkilerinin araştırılması da, bu çalışmanın ana konusunu ve amacını oluşturmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

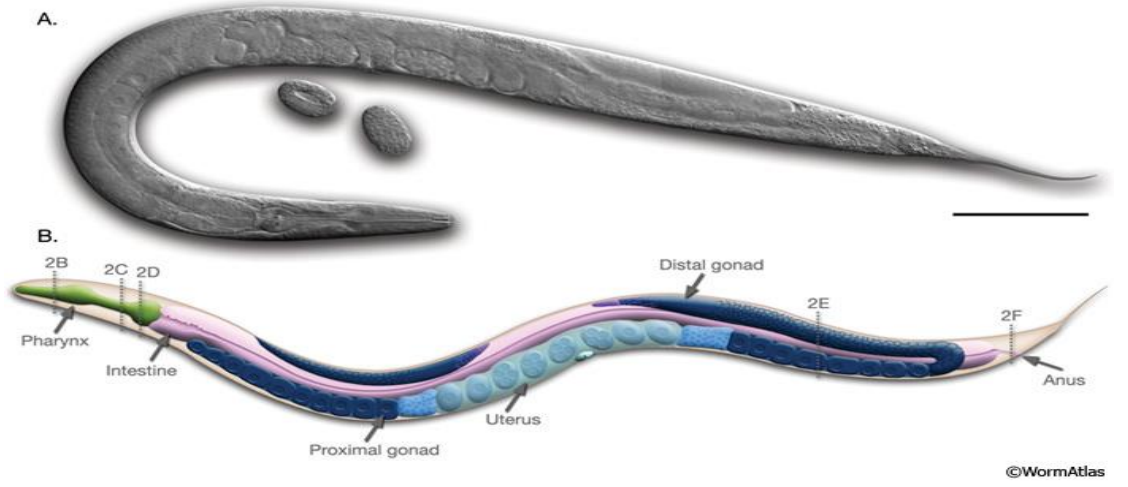
2.1. *Caenorhabditis elegans* Model Organizması Hakkında Bilgiler ve Özellikleri

Caenorhabditis elegans (*C.elegans*), yaklaşık 1 mm uzunluğunda biyoloji, tıp ve çeşitli sağlık bilimleri alanlarında kullanılan, serbest yaşayan, patojen olmayan, toprakta yaşayan, şeffaf görünümlü bir nematodtur. Bu model organizma sayesinde, 2002 ve 2006 yıllarında Nobel tıp ve Fizyoloji alanlarında bilim ödülleri kazanılmıştır. İnsan genlerine çok benzemesi (yaklaşık %80) ve homologlarının da bulunması nedeniyle memeli canlılardaki birçok keşif, bu model organizma sayesinde yapılmıştır (Segalat, 2006; Ergen, 2012). Metabolik olarak aktif üreme, sindirim, endokrin, duyu ve nöromusküler sistemleri ile ve ekonomik oluşuyla ideal bir organizmadır. *C.elegans* nematodu, yaşlanma ve yaşam süresi çalışmaları için araştırmacılara çeşitli fırsatlar sunmaktadır.

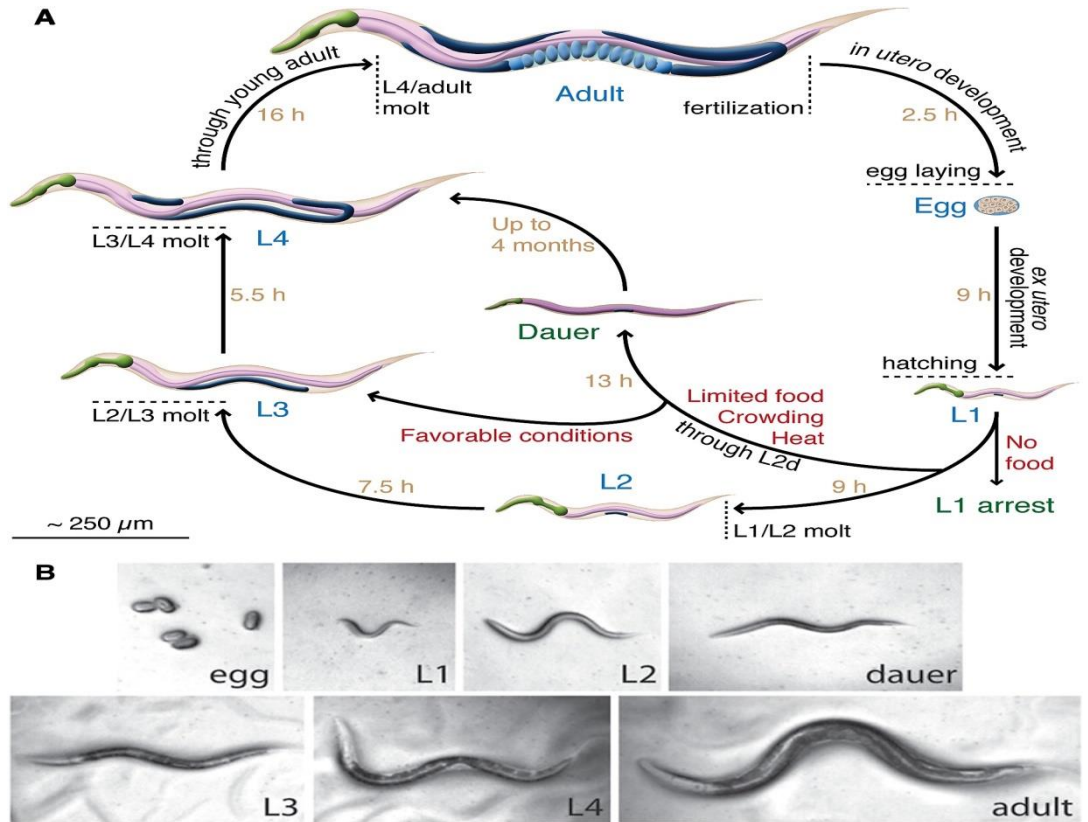
C.elegans laboratuvar koşullarında, petri kabı içinde bakteriyle *Escherichia coli* (*E.coli*) OP50 suşu ile beslenen ve yaşamını sürdüren bir nematodtur (Ünlü, 2010). Bu organizma hermafrodit ve erkek olmak üzere 2 cinsiyete sahiptir. Hermafrodit olanları XX, erkek olanları ise XO kromozom yapısındadır (Brenner, 1974). Erkekler, popülasyonun %0.5'inden daha azlık bir kısmını oluşturmaktadır (Riddle, 2010). *C.elegans*'taki 4 Üreme (larval) döngü (L1-L4) de bazı aşamalardan oluşmaktadır. Canlının yetişkin hale gelebilmesi, oda sıcaklığında (20-25°C) yaklaşık 2,5-4 gün arası sürmekte olup ortalama yaşam süresi ise, 12-20 gün arası sürmektedir. Açlık veya stres koşulları altında, ortamda da yeterli besin bulunmadığında, *C.elegans* larvaları, canlının nöroendokrin sinyalleri tarafından kontrol edilen 'dauer' adı verilen alternatif bir forma dönüşebilmektedir (Finch ve Ruvkun, 2001). Dauer aşamasındaki canlılar ortam şartlarına, L3 larva dönemindekilere göre çok daha fazla dayanıklıdır ve birkaç ay boyunca beslenmeden hayatta kalabilirler. Hareketleri ise L3 larvadan daha hızlıdır ve yiyecek bulduğu zaman tekrar L4 larva dönemine geri dönebilmektedir (Corsi ve ark., 2006; Friberg, 2006).

Canlıda bulunan birkaç yolaktaki bazı genler, yaşam süresi kontrolünde önemli bir rol oynamaktadırlar. Bunların en önemlisi de, insülin benzeri DAF-2 reseptör geninin mutasyonudur ve hem dauer programında hem de yaşam süresi uzunluğunda ciddi bir öneme sahiptir. Ayrıca bu hayvandaki moleküler genetik yapı çok iyi bir şekilde tanımlanmış olup, 959 somatik hücre soyunun bilgisi ile tamamen sekanslanmış, korunmuş bir genom yapısı, işleri büyük ölçüde kolaylaştırmaktadır (Lakowski ve Hekimi, 1998). Şimdiye kadar

C.elegans'ta yaşlanmayı kontrol eden 50'den fazla gen tespit edilmiştir ve bu genlerin çoğu da, diğer canlı organizmaların homologlarıdır (Tavernarakis ve Driscoll, 2002).



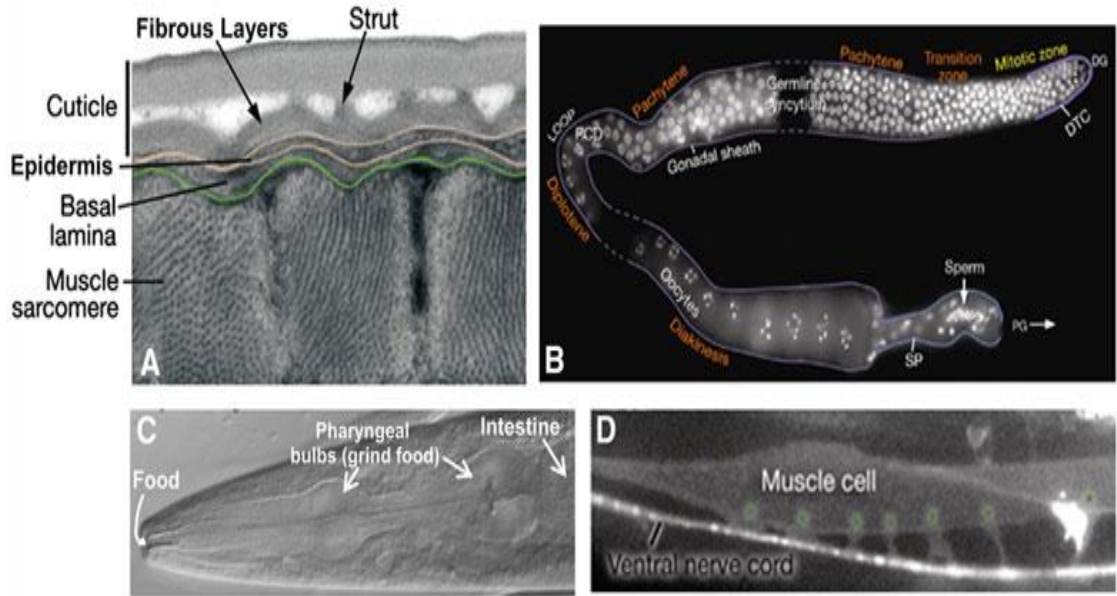
Şekil 1: Genetik Bir Organizma Olarak *Caenorhabditis elegans* (WormAtlas, 2018)



Şekil 2: *C. elegans*'ın Yaşam Döngüsü (Fielenbach ve Antebi, 2008)

C.elegans, şeffaf bir yapıya sahip olması dolayısıyla da, yeşil floresanslı protein kullanılarak gen ekspresyon çalışmalarında da sıklıkla kullanılmaktadır (Hortviz, 2003).

Sindirim sistemi; Yiyecekler (bakteri) hayvanların anterior kısmından girer ve sindirim için bağırsağa geçmeden önce yiyecekleri öğüten iki loblu nöromüsküler bir pompa olan farinksten geçer. Sindirim sistemi de, farinks ve barsaktan meydana gelmektedir.



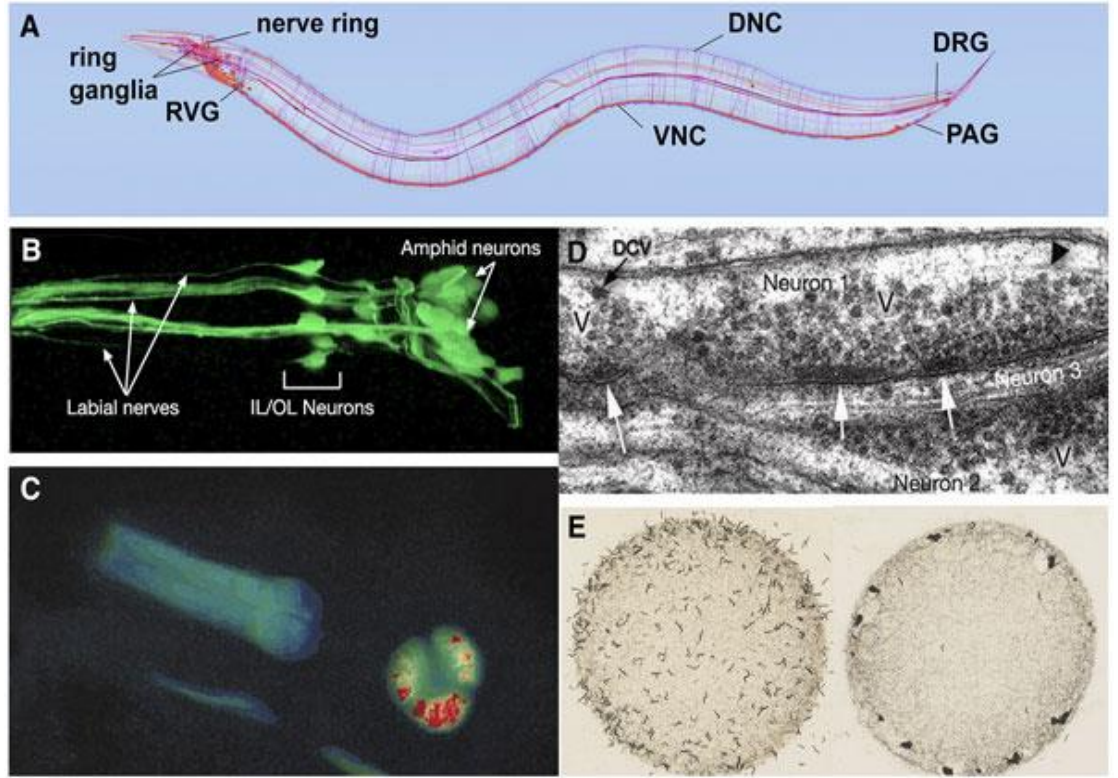
Şekil 3: *C. elegans* 'ın Mikroskoptan Sindirim Sistemi Yapısı (Avery ve You, 2012)

Hayvanların pompalama davranışı, yiyeceklerin mevcudiyetine ve kalitesine bağlıdır. Örneğin, aç olduklarında daha fazla pompalayıp dolu olduklarında ise daha az pompalama davranışı göstermektedirler (Avery ve Shtonda, 2003). Faringeal gelişimin incelenmesi ve epitel morfogenez, organojenez için bir model olmuştur (Mango, 2007). PHA-4 transkripsiyon faktörü ise, farinksin organ kimliği üzerinde önemli, düzenleyici bir rol oynamaktadır.

Sinir sistemi; *C. elegans*, nörobiyolojik sorunların araştırılması için önemli bir model olarak kullanılmaktadır. Araştırmacılar, nöronal jenerasyon ve spesifikasyon, hücre ölümü, prekürsör migrasyonu, sinaps oluşumu, kemoreseptör ve mekanoreseptör transdüksiyonu, nöronal dejenerasyon, nörit rejenerasyonu ve glial fonksiyon için gerekli genleri ve mekanizmaları tanımlamışlardır. Sinir sistemi toplamda 302 hücreden oluşmaktadır (Driscoll ve Chalfie, 1992; Silhankova ve Korswagen, 2007; Ardiel ve Rankin, 2010). Ayrıca 81 kas hücresine de sahiptir (Pirinç, 2016). Araştırmacılar canlının bu sinir sistemi ile kemotaksi,

termotaksis, sosyal beslenme gibi, hem basit hem de karmaşık olmayan çeşitli davranışlarını incelemektedirler (Ardiel ve Rankin, 2010).

C. elegans nöronları ise, 7000'den fazla kimyasal sinaps ve gap junction (geçit bölgesi) yapmaktadır (White ve ark., 1986).



Şekil 4: *C. elegans*'ın Sinir Sistemi Anatomisinin İncelenmesi (Ardiel ve Rankin, 2010)

Üreme dokusu- Cinsiyete özgü anatomi; *C. elegans* cinsiyeti; somatik gonad ve ikincil cinsiyet yapıları ile vücut büyüklüğünde bazı belirgin anatomik farklılıklar göstermektedir. Somatik gonad, vücudun ortasında, bağırsağın yanında bulunmaktadır. Hermafroditlerdeki gonad, iki ayna görüntüsü olan U-şekilli tüplerden oluşmaktadır; erkeklerdeki gonad ise, U şeklindeki tek bir lobtan oluşur. Her iki gonad da oositlerin ve spermin geliştiği germ hattında bulunmaktadır (Hubbard ve Greenstein, 2005).

2.1.1. *Caenorhabditis elegans* ve Yaşam Süresi Çalışmaları

Yaşlanma, neredeyse tüm organizmalar için kaçınılmaz bir süreçtir ve yaşlanma süreci daha önce, genomik DNA, proteinler ve lipidler gibi hücrenin makromoleküllerine verilen hasarın neden olduğu pasif entropik doku bozulması süreci olarak da kabul edilmiştir. Makromoleküller üzerinde oksidatif hasar birikimi, yaşlanma süreciyle de birlikte gittikçe artmaktadır. *C.elegans* nematodunun, ilk uzun ömürlü mutantının izolasyonundan bu yana, bazı bilim adamları da; mayalar, solucanlar, sinekler ve fareler gibi diğer model organizmalarda da uzun ömürlülüğü düzenleyen çeşitli genleri ve sinyal yollarını tanımlamışlardır. *C.elegans*; yaşlanma, metabolik sendrom, kanser gibi hastalıkları ve nöral dejenerasyon, depresyon, Parkinson, Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıkları incelemek için model organizma olarak kullanılmaktadır. *C.elegans* ilk olarak ise, 1970'lerde yaşlanmayı incelemek için, bir çalışmada kullanılan bir model organizma olmuştur. Bu çalışmada ise, bir dizi genetik faktörün yaşlanma sürecini düzenlemede önemli bir rolü olduğu gösterilmiştir ve bu genetik faktörler, çevresel faktörlerle birlikte yaşlanma hızına ve sürecine etki etmektedir (Uno ve Nishida, 2016).

Özellikle yaşlanmanın genetik yönlerinde ve potansiyel olarak ömrü uzatan maddelerin (antioksidanlar vb.) yaşam süresi üzerine etkilerini test etmek için, yaygın olarak kullanılan bir model organizma olmuştur (Gruber ve ark., 2015). Tıp dünyası ise uzun yıllardır yaşam kalitesini ve yaşam süresini arttırmaya yönelik çeşitli araştırmalar ve çalışmalar yapmaktadır. Yaşlanma arttıkça beraberinde, diğer hastalıklara (obezite, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, kanser, depresyon, Alzheimer vb.) yakalanma riski de artmaktadır. Bu yüzden yaşlanma ve yaşam süresi alanında yapılmış ve yapılacak olan çalışmalar da, bu hastalıkların önlenmesi açısından son derece büyük önem taşımaktadır (Ergen, 2012).

C.elegans'ta yaşlanma sürecinde birçok çeşitli, farklı yolaktaki genlerin etkisi gösterilmiştir, bu yollardan en önemlileri ise; insülin/IGF-1-benzeri sinyal yolağı, JNK sinyal yolağı, mitokondri genleri, oksidatif stres ve TOR sinyal yolağıdır (Schaffitzel ve Hetweck, 2006).

Çeşitli meyveler ve farklı bitkiler, canlılarda oksidatif strese karşı farklı koruma sağlayabilmektedirler; çünkü vitaminler, mineraller, lif içerikleri ve antioksidan kapasiteleri bakımından birçok yönden farklılık göstermektedirler. Antioksidan enzimlerin ekspresyonu ve bazı antioksidanların suplementasyonu, *Drosophila* suşlarında ve hatta fare modellerinde bile yaşam süresinin arttırılmasında etkili olmuşlardır (Sohal ve ark., 2002; Kılıçgün ve Gökşen, 2012). *C. elegans*'ın yaşam süresi çalışmaları için çok yararlı bir deneysel model

olduğu çeşitli araştırmalarla da kanıtlanmıştır. *C. elegans* günümüzde, doğal maddelerin olası uzun yaşam etkilerini test etmek için, çeşitli doğal madde ve ticari sağlık besin takviyeleri çalışmalarına da dahil edilmiştir (Melov ve ark., 2000; Gita, 2008). Antioksidan maddeler genelde, yaşlanmayı ve uzun ömürlülüğü modüle etmek için ümit vadeden bir strateji olarak düşünülmektedir. Bitkilerdeki antioksidanların yararlı etkileri ise, temel olarak *in vitro* çalışmalardan veya kısa süreli diyet takviyesi çalışmalarından tahmin edilmektedir. Harcamalara ve süreye bağlı olarak, diyet antioksidanlarının tüm hayvanların yaşam süresi üzerinde yararlı olup olmadığı hakkında ise nispeten daha az şey bilinmektedir. Meyve, sebze ve bitkilerde bulunan antioksidan/antiinflamatuvar polifenolik bileşik kombinasyonlarının diyetle tüketimi sonucunda ise yaşlanmayı tersine çevirebileceği görüşü, araştırmacılar tarafından günümüzde de hala geçerliliğini korumaktadır (Kılıçgün ve Gökşen, 2012). Memelilerde antioksidan çalışmalarının pahalılığı ve çoğu zaman belirsiz sonuçlar vermesi nedeniyle de, uzun ömürlülüğün belirlenmesi ve yaşam süresini uzatma çalışmaları için, bu model organizma (*C.elegans*) üzerinde antioksidanların etkinliğini artırma çalışmaları, günümüzde giderek daha popüler hale gelmektedir (Burnell ve ark., 2005; Gruber ve ark., 2009).

C.elegans'ta E vitamini, insülin sinyalinde azalma, kalori kısıtlaması, diyet takviyeleri, nematodun ömrünü (yaşam süresini) uzatmaktadır. Isı stresi şoku, hiperoksi ve UV ışıınımı da stres direncini arttırdığı için, bu gibi çeşitli durumlar da nematodun yaşam süresini uzatmaktadır (Ergen, 2012; Gruber ve ark., 2015).

Yapılan çalışmalarda, reaktif serbest radikallerin sayısının azalması veya antioksidan maddelerin artması durumunda, organizmaların yaşam süresinin uzayabileceği bulunmuştur. Fakat antioksidan kapasiteyi optimize eden, aynı bitkinin farklı konsantrasyonlarıyla yapılan çalışmalarda bile, test sistemleri için farklı antioksidan ve prooksidan etkiler görülebilmektedir, yani önemli olan o bitkinin kullanım dozudur (Kılıçgün ve Gökşen, 2012).

2.1.2. *C. elegans*'ta Sıcak Stresi ve Termotolerans

Termotolerans, basit omurgasız canlılarda sıcak stresine karşı canlılar tarafından oluşturulan dayanıklılık (direnc) tir. Bu tür canlılarda, strese karşı dayanıklılık (direnc) arttıkça, yaşlanma gecikmekte ve normal yaşam süresi de uzamaktadır. Antioksidan bileşikler çeşitli mekanizmaların da etkisiyle sıcak stresine karşı bir tür direnc sağlayıp, yaşlanmayı

geciktirebilmekte ve dolayısıyla da canlıların yaşam süresi artmaktadır (Benedetti ve ark., 2008).

Yaşlanmada hormesis kavramı, hücrelerde ve organizmalarda koruyucu mekanizmaların hafif stres kaynaklı uyarımıdır ve biyolojik olarak yararlı etkilerle de sonuçlanmaktadır. Işınlama (UV), sıcak, soğuk, hipoksi, hiperoksi, kalori kısıtlaması, ısı stresi, hiper kütle çekimi, endoplazmik retikulum stresi, ağır metal stresi, reaktif oksijen türleri (ROS) ve diğer serbest radikaller gibi çeşitli zararlı etkilerin, düşük dozlarına tekli veya çoklu maruz kalınması sonucu da, basit omurgasız canlılarda çeşitli anti-aging (yaşlanmayı geciktirici) ve uzun ömürlü hormetik etkiler görülebilmektedir. Hormesis böylece; yaşlanmayı, yaşa bağlı görülen hastalıkları ve ölümün nihai nedeni olan homeodinamik boşluğu da dengeleyici bir özellik göstermektedir (Rattan, 2008). Stres türlerinden biri olan, ısı stresi (HS) de, termal hormesis test etmek ve sıcak stres protokolünü uygulayabilmek için özel bir amaçla kullanılan stres çeşitidir. Bunun sebebi, yalnızca uygulanmasının kolay olması ve tutarlı sonuçların elde edilmesi değil; aynı zamanda ısı stresinin, ısı şoku tepkisi olarak da bilinen evrimsel olarak iyi korunmuş bir stres tepki yolağından geçmesidir (Lithgow ve ark., 1995; Kılıçgün ve Gökşen, 2012).

Nematodlardan ise; vahşi tip (N2 strain) ve *age-1* mutant hermafrodit *C. elegans*'lar, 3-24 saat boyunca 30-35°C'lik sıcak strese maruz kaldıklarında, kontrol grubuna kıyasla ortalama yaşam sürelerinde belirgin ve anlamlı düzeyde bir artış gözlemlenmiştir. Ayrıca, *Daf-2* ve *age-1* genlerindeki mutasyonlar da *C. elegans*'ın yaşam süresini uzatmaktadır. Strese karşı oluşturulan direnç seviyesi ile yaşam süresi arasında da anlamlı bir ilişki bulunmaktadır (Lithgow ve ark., 1995; Johnson, 2002). Yine çoklu stresler üzerinde yapılan bir çalışmada, 1 ve 2 saat boyunca 35°C'de sıcak stres uygulanmış *elegans*larda bile, yaşam süresi üzerinde önemli bir artış bildirilmiştir (Cypser ve Johnson, 2003). Termotoleransı olumlu yönde etkileyen bu stres faktörlerinin, yaşam süresini de uzatacağı otoritelerce kabul edilmektedir. Termotolerans çalışmaları, bu tür organizmalarda 'kısa zamanlı yaşam süresi analizi' deneyi olarak da kullanılıp, test edilmektedir.

Bu çalışmada da, çeşitli güçlü antioksidan aktiviteleri nedeniyle *Melissa officinalis* (oğulotu) ve *Persea americana* (avokado) bitkilerinin, termotolerans (sıcak strese karşı dayanıklılık) yani yaşam süresi üzerindeki etkilerinin test edilmesi amaçlanmıştır. Isı şok genleri tarafından kodlanan sıcak stres proteinleri, hücrenin sıcak strese karşı dayanıklılık yeteneğini artırıp, olumsuz koşullara karşı da direnç kazanmasını sağlamaktadır. *Hsp-16* ve *Hsp-70* gibi birtakım genlerin aşırı ekspresyonu da yaşam süresini ve stres direncini arttırmaktadır. Ayrıca antioksidan bileşikler de, *C. elegans*'ta sıcak strese karşı bir korunma

sağlayabilmektedir. Böylece yaşa bağlı görülen diğer önemli hastalıkların tedavisinde de, bu tür bileşiklerle yeni alternatif çözümlerin üretilebileceği otoritelerce beklenmektedir (Akman, 2008; Köksal, 2010).

C.elegans üzerinde yapılmış bir başka çalışmaya göre, yaşamı boyunca belirli aralıklarla tekrarlanan hafif düzey ısı işlem uygulanan canlılarda, yaşamın erken dönemlerinde tek bir kez hafif ısı işlem uygulanan canlılara kıyasla, yaşam süresi üzerinde daha belirgin artışlar görülmüş, bu etkinin de ‘moleküler şaperon’ olarak adlandırılan, ısı şoku proteinlerinin (HSP) seviyesi ile ilişkili olduğuna karar verilmiştir (Olsen ve ark., 2006). Isı şoku sırasında çoğu proteinin transkripsiyonu ve translasyonu inhibe edilmektedir. Ayrıca, arttırılmış sıcaklık gibi çevresel streslere karşı yanıt olarak da, korunmuş transkripsiyon faktörü HSF-1 (ısı şoku transkripsiyon faktörü-1) ve FoxO transkripsiyon faktörü *Daf-16* da (RNAi), ısı ile indüklenebilen genlerin promotörlerinde ısı şoku elemanlarına (HSE’ler) bağlanmakta ve sitoprotektif ısı şoku proteinlerinin (HSP’ler) ve moleküler şaperonların (*Hsp-70* ve *Hsp-90* gibi) da ekspresyonunu indüklemektedir. Bu proteinler, katlanmamış veya yanlış katlanmış ve kümelenmiş proteinleri tespit etmekte ve bunları yeniden katlayıp birikmelerini önlemektedir; bu da, ısı şoku tepkisi (HSR) olarak bilinen bir süreç olarak çeşitli kaynaklarda yer almaktadır (GuhaThakurta, 2002; Richter ve ark., 2010).

Drosophila suşlarında ve insan fibroblastlarında, hormetik ısı şoku; moleküler şaperonlarından biri olan *Hsp-70* gibi, HSF-1 hedef genlerini de regüle etmektedir ve *C.elegans*’ta, ısı şokunu takiben başka bir HSF-1 hedef geninin *Hsp-16.2* ekspresyon seviyesi de, yaşam süresini tahmin etmek için kullanılabilmektedir. *Hsp-16*’nın aşırı ekspresyonu, insülin/IGF-I sinyal yolağına bağımlı bir şekilde ömrün uzatılması için yeterli olmaktadır. Birçok hormesis çalışması da, yaşam süresi uzatımı ve *hsp-16*’nın indüksiyonu arasında güçlü bir korelasyon bulmuştur (Olsen ve ark., 2006). HSF-1, proteostazı sürdürmek için çok önemlidir ve çeşitli organizmalarda protein toksisitesini ve agregasyonunu baskılayabilme gibi önemli özelliklere sahiptir. Böylece canlılarda, antioksidan bileşikler gibi ısı şok proteinleri de sıcak stresine karşı dayanıklılık sağlayarak termotolerans etki göstermiş olmaktadır. HSF-1’in aşırı ekspresyonuna benzer şekilde, hormetik stres de yaşam süresini ve stres direncini arttırabilmektedir. Ayrıca, *C.elegans*’ta bulunan termotoleransı destekleyen genlerin %80 kadarı da, kısa sürede sıcak seviyesinin yükseltilmesiyle birlikte yaşam süresini, % 15’e kadar arttırabilmektedir (Kristensen ve ark., 2003; Mendenhall ve ark., 2012; Zevian ve Yanowitz, 2014).

2.2. Fonksiyonel Besinler ve Antioksidanlar

Fonksiyonel besinlerin, dünya çapındaki otoriteler tarafından ortak kabul edilmiş kesin bir tanımı yapılamamaktadır (ILSI, 2018). Yaşamımızı idame ettirebilmemiz için vücudumuzun ihtiyaç duyduğu enerji ve temel besin ögesi ihtiyaçlarını karşılamamanın ötesinde, insan sağlığı üzerine olumlu etkiler gösteren, çeşitli yararlar sağlayan ve böylelikle hastalıklardan korunmamızda ve hastalıkların tedavisinde yardımcı olan besin veya besin bileşenlerine ‘fonksiyonel besin’ denmektedir (Kodaz, 2013). Ayrıca, aktif bileşenlerinden birisinin vücuda yarar sağlaması için, o belirlenen bileşeni doğal olarak arttırılan, direkt içerisine eklenen (mikroorganizma vb.), zararlı etkisi nedeniyle uzaklaştırılan (doymuş yağ asidi vb.), kimyasal yapısı değiştirilen veya birkaç bileşenin birlikte biyoyararlılığı arttırılan besin veya besin grupları/bileşenleri olarak da tanımlanabilmektedir (Ashwell, 2002).

Kronik hastalıklardan korunma ve iyileşmede, sağlık açısından önem taşıyan ve tıbbi olarak tedavide de kullanılan bu besinler fonksiyonel besin olarak kabul edilmektedir (Ohr, 1997). Bu tür besinlerin içerisinde; çeşitli tıbbi besinler, nutrasötik gıdalar, özel diyet amaçlı besinler, modifiye gıdalar ve geleneksel gıdalar yer almaktadır. 2500 yıl kadar öncesinde tıbbın babası Hipokrat tarafından söylenen “Gıdanız ilacınız, ilacınız gıdanız olsun.” sözü de beslenme ve gıda alanında, bugünün de temel ilkesi haline gelmiştir (Das ve ark., 2012).

Fonksiyonel gıda terimi, 1980’li yıllarda Japonya’da tanıtılmış ve daha sonra tüm dünyada kullanılmaya başlanmıştır. Fonksiyonel gıda kavramı ilk defa Japonya’da Sağlık Bakanlığı tarafından yapılan çeşitli düzenlemelerle ‘özellikle sağlık yararı’ olan gıdalar olarak da tanımlanıp ilaçlardan ayrı tutulmuştur (Hacıoğlu ve Kurt, 2012).

Bir besinin fonksiyonel olarak kabul edilebilmesi için vücudun işlevinde çeşitli olumlu değişiklikler yaptığının bilimsel araştırmalarla kanıtlanması gerekir. Bu tür besinlerin hedef kitlesi; gastrointestinal sistem, karbonhidrat, aminoasit ve yağ metabolizması, detoksifikasyon sistemi ve vücudun fiziksel, bilişsel performansdır (Baysal, 2009).

Besinlerdeki fonksiyonel bileşenler; Prebiyotik probiyotikler, karotenoidler, diyet lifleri, şeker alkoller, yağ asitleri, oligosakkaritler, flavanoidler, izosiyonatlar, vitamin ve mineraller, terpenler, antioksidanlar, fenolik asit, konjuge linoleik asit (CLA), limonoidler, fitosteroller, peptidler ve proteinler, antosiyanidinler, kateşinler, gallik asitler, izoflavonlar, glukozinolatlar, tiyoller, indoller, allilik sülfidler, bitkisel stanol ve steroller, fitoöstrojenler, laktobakteriler, betakarotenler, kükürtlü bileşikler, lipoik asit ve koenzim Q vb. dir (Savurdan, 2007; Şafak, 2012; Tekün, 2015).

Çeşitli bilim komisyonları tarafından önerilen fonksiyonel gıda tanımlarının ortak noktaları;

- Fonksiyonel gıdalar yiyecek, içecek formundadır.
- Fonksiyonel gıdalar günlük beslenmemizin bir parçasıdır.
- İlaç, kapsül veya hap formunda değildirler.
- Bilim komisyonları tarafından etkileri onaylanmış olmalıdır.

İnsan sağlığı üzerine olumlu etkiler gösterip hastalık riskini azaltıcı biyoaktif maddeler veya bileşenler içeren gıdalardır (Savurdan, 2007; Şafak, 2012; Tekün, 2015).

Tablo 1: Bazı Fonksiyonel Besinler, Ana bileşenleri, Kaynakları ve Potansiyel Sağlık Yararları

SINIF/BİLEŞEN	KAYNAKLAR	POTANSİYEL SAĞLIK YARARLARI
Karotenoidler		
Alfa-Karoten	Havuç, bal kabağı, palm yağı	Oksidatif strese neden olan serbest radikalleri etkisizleştirir.
Beta-Karoten	Turuncgiller, havuç, kabak, tatlı patates, kayısı, kavun ve diğer sebzeler	Antioksidan savunmayı sağlar.
Lutein ve zeaksantin	İspanak, mısır, yumurta, narenciye, karalahana, yeşil yapraklı sebzeler	Sağlıklı görünüm sağlar. Yaşa bağlı maküler dejenerasyon ve katarakt oluşma riskini azaltır.
Likopen	Domates ve ürünleri (ketçap, salça, işlenmiş domates vb.), kavun, karpuz, pembe üzüm	Prostat kanseri riskini azaltır. LDL oksidasyonunu inhibe etmektedir.
Diyet Lifi		

Çözünmez Posa	Buğday kepeği, meyve kabukları, mısır kepeği	Sindirim sistemi sağlığına faydalıdır. Bazı kanser türleri (meme, kolon, akciğer) riskini azaltır.
Beta-glukan	Yulaf ezmesi, yulaf kepeği, arpa, çavdar	Koroner kalp hastalığı (KKH) riskini azaltmaktadır.
Çözünür Lif	Psyllium kabuğu, bezelye, fasulye, elma, narenciye meyveler, kurubaklagiller	KKH riskini ve bazı kanser türleri riskini azaltır. Kolesterol ve safra asitlerini bağlar.
Tam tahıllar	Tam buğday ekmeği, esmer pirinç, yulaf ezmesi, hububat	KKH riskini ve bazı kanser türleri riskini azaltır. Kan glukoz seviyesini düzenler.
Yağ Asitleri		
Tekli doymamış yağ asitleri (MUFA)	Fındık yağı, zeytinyağı, kanola yağı	KKH riskini azaltmaktadır.
Konjuge Linoleik Asit (CLA)	Sığır eti, kuzu eti, süt ve süt ürünleri, peynirler	Vücut kompozisyonunu geliştirir ve immun sistemi düzenler.
Omega-3 Yağ Asitleri (EPA/DHA)	Balık ve balık yağları, ceviz, keten tohumu, keten tohumu yağı	KKH riskini azaltır, mental fonksiyon ve görme fonksiyonlarını iyileştirir.
Prebiyotikler (İnülin, fruktooligosakkaritler (FOS), galaktooligosakkaritler (GOS), polidekstroz.	Kepekli tahıllar, bazı meyveler, sarımsak, soğan, pırasa, enginar, tahıllar, bal, muz	Gastrointestinal sistemi ve mikroflorayı düzenler, kalsiyum emilimini regüle eder.
Probiyotikler	Bazı yoğurtlar, kefir ve fermente edilmiş süt ürünleri	Gastrointestinal sistem ve mikroflorayı düzenler, ishali tedavi eder, sistemik bağışıklık ve menapoz sağlığında etkindirler.
Fitoöstrojenler		

Lignanlar	Keten, çavdar, bazı sebzeler, lepiska, brokoli, karnabahar	Kalp hastalıklarına ve bazı kanser türlerine karşı koruyucudur, immun sistemi destekler.
İzoflavonlar (Genistein-Daidzein)	Soya fasulyesi ve soya bazlı gıdalar	Koroner kalp hastalığı riskini azaltır, menapoz semptomlarını düzenler ve bazı kanser türlerine karşı koruyucudur.
Kükürtlü Bileşenler		
Diallilsülfidler	Soğan, sarımsak, yeşil soğan, pırasa, turp	Detoksifikasyonu sağlar, antioksidan özellik gösterirler, LDL kolesterolü düşürüp immün sistemi korur.
Allil-metil trisülfidler	Lahana, roka, turp, şalgam, tere, kereviz	Detoksifikasyonu sağlar, immün sistemi destekler.
Sülforofan	Brokoli, karnabahar, lahana, kıvırcık lahana, yaban turpu	Antioksidan savunmaya yardımcıdır, detoksifikasyonu sağlar, serbest radikalleri etkisizleştirir.
Bitkisel Stanol/Steroller	Soya, buğday, mısır, takviye edilmiş gıdalar ve içecekler, fıstık, badem, fındık, ceviz, yağlı tohumlar, bitkisel yağlar	KKH riskini azaltmaktadır. Antiinflamatuvar, aterosklerotik, antioksidatif özellik gösterirler. LDL kolesterolü düşürmektedir.
Flavonoidler		
Antosiyaninler	Çilek, vişne, üzüm, berryler, karadut, kırmızı şarap, antep fıstığı, yer fıstığı	Beyin fonksiyonlarını düzenler. Antioksidan özellikleri sayesinde serbest radikalleri etkisizleştirir, kanser riskini azaltırlar.

Flavonoller (Kateşin, Epikateşin, Epigallokateşin, Galangin)	Çay, kakao, çikolata, elma, üzüm, soğan, brokoli, yeşil çay	Antioksidan özellikleri sayesinde serbest radikalleri etkisizleştirir, kanser riskini azaltırlar.
Flavanonlar	Turunçgiller	Antioksidan özellikleri sayesinde serbest radikalleri etkisizleştirir, kanser riskini azaltırlar.
Proantosyanidinler	Kızılcık, kakao, çay, elma, çilek, üzüm, şarap, tarçın, fıstık, yaban mersini, çikolata	Antioksidan özellikleri sayesinde serbest radikalleri etkisizleştirir, kanser riskini azaltırlar. Üriner sistemin korunmasına yardımcıdır.
Fenoller		
Kafeik Asit ve Ferulik Asit	Turunçgiller, elma, armut, kahve ve diğer sebzeler	Antioksidan özellik gösterirler. Kalp ve göz hastalıkları gibi bazı dejeneratif hastalık riskini azaltırlar.
Şeker alkolleri	Şeker alkolleri içeren besinler	Diş çürüklerini azaltırlar.
Uçucu Yağlar	Kekik, nane, <u>melissa</u> , biberiye, adaçayı, rezene, fesleğen, defne, maydanoz, karanfil, anason, <u>avokado yağı</u>	Antioksidan, antiinflamatuvar ve antimikrobiyal özellik gösterirler. Hipertansiyon, yüksek kolesterol, diyabet, kanser, sindirim sistemi, idrar yolları hastalıkları vb. tedavisinde kullanılmaktadırlar.

*Tablo 1’de bazı fonksiyonel besinler, ana besin bileşenleri, kaynakları ve potansiyel sağlık yararları yer almaktadır (Savurdan, 2007; Şafak, 2012; Tekün, 2015).

Yücecan (2001)’e atfen, Savurdan (2007) doğal besinlerle beslenebilen insan sayısının günümüzde az olduğunu ve bu nedenle de diyet-hastalık bağlantısı ipuçlarını araştırabilmek

amacıyla epidemiyolojik araştırmaların yapıldığını, vücut sağığını koruyan ve hastalıklarla savaşan 900’den fazla fitokimyasalın tespit edildiğini ve yenilerinin tespit edileceğini, ayrıca bitkisel ürünlerle beslenmenin kronik hastalık (diyabet, kanser vb.) riskini azaltabildiğine dair çeşitli sayıda *in vivo*, *in vitro* ve klinik deney çalışmalarının da olduğunu belirtmektedirler.

Sağık üzerine olumlu etkileri olan, yiyeceklerdeki bitkisel kaynaklı (meyve, sebze, tahıllar) aktif bileşiklere ‘fitokimyasallar’ denilmektedir. Bu bileşikler fiziksel ve kimyasal özelliklerinin yanı sıra, koruyucu işlevlerine göre de sınıflandırılmaktadırlar. Bu bileşiklerin hangi sınıfa dahil olduklarını belirlemek oldukça zor ve karmaşık bir işlem olsa da, her sınıfın vücutta ayrı ve önemli bir işlevi olduğu bilinmektedir. ‘Fito’ kelimesi Yunanca’da bitki anlamına gelmekte, ‘kimyasal’ kelimesi de bitkilerde kendiliğinden, doğal olarak meydana gelen kimyasal bileşikleri kastetmektedir (Coşkun, 2005; Özcan, 2006).

2.2. Fonksiyonel Besinlerin Hastalıklar Üzerindeki Etkileri

Gıdaların fonksiyonel bileşenleri, hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde etkin bir şekilde kullanılmaktadır. Eř zamanlı olarak, aynı veya farklı hedef bölgelerinde; kanser, kardiyovasküler hastalık, osteoporoz, iltihaplanma, tip II diyabet ve diğerkronik dejeneratif hastalık türlerinin oluşumunun önlenmesi, kan kolesterolünün düşürölmesi, reaktif oksijen türlerinin (ROS) nötralizasyonu, antikanserojenik etki, düşük glisemik yanıt, yüklü radikallerin riskini azaltma da dahil olmak üzere, çeşitli fizyolojik yararlar sağılama ve refahı sağılama potansiyeline sahiptirler. Çözünür ve çözünmeyen diyet lifleri, nişastalı karbonhidratlar gibi fonksiyonel bileşenler; polifenoller, karotenoidler, tokoferoller, tokotrienoller, fitosteroller, izoflavonlar, organosülfür bileşiklerini içeren antioksidanlar; bitki sterolleri ve soya fitoöstrojenleri sadece bitkisel gıdalarda (tam tahıllar, meyveler ve sebzeler) fitokimyasallar olarak bulunmaktadır. Bununla birlikte; probiyotikler, prebiyotikler, konjuge linolenik asit, uzun zincirli omega 3, -6 ve -9 çoklu doymamış yağ asitleri ve biyoaktif peptidler, fonksiyonel bileşenlerin süt, mayalı süt ürünleri ve soğuk su balıkları gibi türlü hayvansal gıdalar da fonksiyonel gıdalar grubundadır (Abuajah ve ark., 2014).

Bilim, diyetin insan sağığını etkilediğini göstermiştir. Bu nedenle, sağıklı besinler sağığın korunmasını teşvik ederler. Bazı gıda bileşenlerinin ve besin maddelerinin; kanser, koroner kalp hastalığı (CHD) ve osteoporoz gibi kronik hastalıkların önlenmesi / tedavisi ile ilişkili olduğunun öğretilmesi, tüketicinin fonksiyonel gıdalara ve doğal sağık ürünlerine karşı olan ilgisini arttırmaya sebep olmuştur. Nutrasötik bir ürün, genellikle gıda ile ilişkili

olan, tıbbi formlarda satılan, gıdalardan izole edilmiş veya saflaştırılmış bir ürün çeşididir. Bir fonksiyonel gıda geleneksel bir yiyeceğe görünüşte benzer olabilir, olağan bir diyetin bir parçası olarak tüketilir ve fizyolojik yararları olduğu ve/veya temel besinsel işlevlerinin ötesinde kronik hastalık riskini azalttığı da çalışmalarla gösterilmiştir.

Biyolojik sistem, besinsel moleküller ve genetik polimorfizmler arasındaki karmaşık ilişkiyi aydınlatmak, sağlığı optimize etmede diyet ve genler arasındaki etkileşimi açıklayabilmek için, diyetin kişiselleştirilmesini savunan bilim insanları tarafından, nutrigenomik ve nutrigenetik kavramları yaratılmıştır. Bu amaç doğrultusunda yapılacak olan çeşitli akademik çalışmalar da; yeni gıda bilimine ve de teknoloji ve endüstri gelişimi doğrultusunda önemli bir potansiyele sahip olacak olan fonksiyonel gıda bilimine, yeni bir boyut kazandıracaktır. Transkriptomik, proteomik, metabolomik, Rnomics, miRNomics, liponomi, fluksomiks, toksigenomiks vb. genomiklerden ayrılan yeni disiplinler, bu tür farklı araştırmaları ileride daha da kolaylaştıracaktır (Pushpangadan ve ark., 2014).

2.2.2 Avokado (*Persea americana*) Meyvesi Hakkında Bilgiler

Tablo 2: *Persea americana* Bitki Sistematiği (Canbolat, 2016)

Alem:	<i>Plantae</i>
Bölüm:	<i>Angiosperms-magnoliids</i>
Takım:	<i>Laurales</i>
Familiya:	<i>Lauraceae</i>
Cins:	<i>Persea</i>
Tür:	<i>Persea americana</i>

Avokado (*Persea americana*), kapalı tohumlular sınıfından, Defnegiller familyasına ait, yaprak döken bir ağacın meyvesinin ismidir. Dünya üzerinde birçok ülkede yetişebilen, şekil olarak farklılık gösteren, herdem yeşil subtropik bir meyvedir. Dünya’da Meksika, Orta ve Güney Amerika’da ortaya çıkmış ve ilk olarak da Meksika’da M.Ö. 500’lerin başlarında yetiştirilmiştir. Türkiye’de de Akdeniz Bölgesi ve Doğu Karadeniz Bölgesinde yetiştirilmektedir (Jackson ve Weber, 1986; Duester, 2000; Bayram, 2010).



Şekil 5: *Persea americana* (Avokado) Bitkisi (Jackson ve Weber, 1986)

Avokadonun kendine has bir tadı ve yüksek bir besin değeri bulunmaktadır. Bu özelliklerinin oluşmasında yağının büyük bir rolü vardır. A, B, C, D, E ve K vitaminleri ile Fe, Mg, P, S ve Cu gibi çeşitli mineralleri de içermektedir. Avokado, yaklaşık %80 oranında su ve çözünebilir diyet lifi içerdiği için orta derecede enerji yoğunluğuna sahip (1,7 kcal/g) bir meyvedir. Aynı zamanda yüksek yağ içeriği (%7-25) oranına da sahiptir. Diğer meyvelerin aksine avokado, şeker içeriği bakımından düşüktür ve %15 oranında tekli doymamış, yaklaşık %25 oranında ise doymamış yağ asitlerini içermektedir. Bu da sıklıkla avokado ile birlikte tüketilen salatalar ve soslardan karotenoidlerin alımını ve bu maddelerin vücuttaki biyoyararlanımını arttırmaya da yardımcı olur. Ayrıca, diğer gıdalarla birlikte tüketildiğinde bu gıdaların, tek başlarına tüketildiklerinden daha çok besin ögesi emilimini arttırdığı tespit edilmiştir (Unlu ve ark., 2005; McCormack ve ark., 2010).

Avokado yağı, meyve içerisinde bulunan fitokimyasalların ve karotenoidlerin çoğunu korumaktadır. Aynı zamanda cilt yaraları, çatlaklar ve sedef tedavisinde de kullanılmaktadır. Heptoprotektif aktiviteye sahiptir. Kozmetikte deri yumuşatıcı olarak kremlerde de kullanılır (Stucker ve ark., 2001; Husena ve ark., 2014).

Avokadolar ayrıca, çeşitli potansiyel vitaminler, mineraller; glutatyon, lutein, antraksantin, neoksantin ve violaksantin gibi karotenoid antioksidanlar ve fenolik antioksidanlar gibi fitokimyasallar ile çok sayıda potansiyel sağlık yararı olan fitosteroller de içermektedir. Ayrıca skualen gibi lipit fraksiyonunda bulunan bileşikler de içermektedir. Bunlardan lutein, gözü makula dejenerasyonuna ve katarakt oluşumuna karşı koruyan bir antioksidandır. Ayrıca luteinin, ROS (reaktif oksijen türleri) üretimini modüle ederek diyabetik retinopati ve vasküler hastalıklarda da olumlu etkiler gösterdiği ileri sürülmüştür. Böylece, yaşlanma sürecini yavaşlatarak hastalıkları önlemede de önemli bir role sahip olmuştur (Lidebjer ve ark., 2007; Sasaki ve ark., 2010; Lo ve ark., 2012). Meyve aynı zamanda; antioksidan, hipoglisemik, antihipertansif, antiobezite, antikarsinojenik, hipolipidemik, antiinflamatuvar, antikonvulsan, antilitiazis, antiosteoartirit, antitümör,

antimikrobiyal, antiprotozoal, antimikobakteriyel, hepato ve komoprotektif aktiviteye sahiptir (Daiuto ve ark., 2010; Tabeshpour, 2017).

Avokado ve kardiyovasküler sağlık konusunda da 8 ön klinik çalışma bulunmaktadır (Grant, 1960; McCormack ve ark., 2010). Kandaki LDL-C (kolesterol) ve trigliserit seviyelerinde önemli düşüşler meydana getirdiği için hiperlipidemi tedavisinde destekleyici olarak kullanılabileceği yine çeşitli çalışmalarla ispatlanmıştır (Pahau-Ramos ve Ortiz-Moreno, 2012).

Tablo 3: Avokadoda En Fazla Bulunan Biyoaktif Bileşenler Listesi

Kategoriler	Biyoaktif Bileşenler
Karotenoidler	Lutein, β -kriptoksantin, zeaksantin, α -karoten ve β -karoten
Yağ Asitleri	Tekli doymamış (oleik ve palmitik asitler), doymamış (linoleik, palmitoleik ve linolenik asitler)
Mineraller	Kalsiyum, magnezyum, demir, fosfor, sodyum, potasyum, bakır, çinko, mangan ve selenyum
Fenolik ve Polifenolik Bileşikler	Fenolik asitler (hidroksibenzoik ve hidrokinamik asitler), flavonoidler (rutin), stilbenes (resveratrol), kumarin ve tanenler (tannik asit)
Fitosteroller ve Fitostanoller	β -sitosterol, campesterol, stigmasterol ve β -sitostanol, campestanol ve stigmastanol
Proteinler	Asparajin, aspartik asit, glutamin ve glutamik asit
Yedi karbonlu şekerler	D-mannoheptuloz ve perseitol (indirgenmiş formu polyol)
Vitaminler	A vitamini, B vitamini (B1, B2, B3, B5, B6, B12, folat ve kolin), betain, C vitamini, E vitamini (α -tokoferol, β -tokoferol, γ -tokoferol, δ -tokoferol) ve K1 vitamini

*Tabeshpour ve ark (2017)'den modifiye edilmiştir.

Avokado, diğer meyvelere kıyasla; kas aktivitesini düzenleyen ve vücudu kardiyovasküler hastalıklardan koruyan potasyum seviyeleriyle de öne çıkmaktadır. Ayrıca potansiyel olarak kanserojen bileşikler üzerinde etkili olan, güçlü bir antioksidan olan glutatyon kaynağı olarak da bilinmektedir (Duarte ve ark., 2016). Avokadodaki β -sitosterol maddesi, vücut bağışıklığı konusunda önemli özel bir etkiye sahiptir ve kanser, HIV ve enfeksiyon hastalıkları gibi çeşitli rahatsızlıkların tedavisine de katkıda bulunmaktadır. Kanserle ilgili olan mekanizmasında, bağışıklık sistemini güçlendirip karsinogenezi ve HIV'i baskılayarak çalışmaktadır. Bu bileşik, istilacı mikroorganizmaları inaktive eden lenfosit proliferasyonunu ve doğal öldürücü hücrelerin aktivitesini de arttırmaktadır (Bouic, 2002). β -sitosterol aktivitesi aynı zamanda, abdominal bölgedeki kompulsif yeme tıkanıklığını ve yağ birikimini azaltarak kilo vermeye de yardımcı olmaktadır (Duarte ve ark., 2016). İzorhamnetin, luteolin, rutin, kuersetin ve apigenin gibi fitokimyasallar, avokado yapraklarından izole edilmiş olup oksidatif strese karşı çeşitli hastalıkların ilerlemesini de önlemeye yardımcı olabilmektedirler (Owolabi ve ark., 2010).

2.2.2.1 Avokado (*Persea americana*) meyvesi ve hastalıkları tedavi etme özelliği ile ilgili literatür çalışmaları

Fulgoni ve ark. (2013) yaptıkları bir çalışmada; yüksek bir diyet kalite skoru (USDA, HEI-2005) kullanarak; avokado tüketimi ile besin tüketimi (diyet kalitesi), enerji alımı ve diğer besin öğelerinin alımı arasında anlamlı bir ilişki bulmuşlardır. Çalışmanın sonuçlarına göre, avokado tüketimi sonucunda, düşük vücut ağırlığı, düşük BKİ (beden kitle indeksi) ve bel çevresi; daha yüksek HDL-C (kolesterol) seviyeleri ve azalan bir metabolik sendrom ilişkisi saptanmıştır. Meyve, sebze, kaliteli yağlar (tekli ve çoklu doymamış yağlar), diyet lifi, E ve K vitaminleri, magnezyum ve potasyum gibi mineraller daha fazla alınmış, ilave şekerlerin ise önemli oranda daha düşük alındığı, yine bu çalışmayla belirlenmiştir. Sonuç olarak diyetisyenler/beslenme uzmanları, artan meyve ve sebze alımına odaklanan sağlıklı diyetin bir parçası olarak avokado tüketimini tavsiye edebilmektedirler. Metabolik sendrom risk faktörleri yüksek olan bireylerin ise, diyetlerinde avokadoya da yer vermeleri, hastalık risk faktörlerini azaltmak ve genel sağlığın korunmasını sağlamak için etkili olabilmektedir.

Yine farklı bir çalışmada, avokadonun metanol ve kloroform ekstrasyonu sonucunda anti-diyare etkisinin görüldüğü tespit edilmiş ve böylece ileride ishale karşı yapılacak ilaçlarda da etkili olabileceği düşünülmektedir. İçerisinde bulunan kendine has yağı sayesinde, yüz ve saç bakım kremleri, el losyonları ve sabun şeklinde kullanımları da mevcuttur. Ayrıca avokadonun, özofagus ve kolon kanseri üzerine yapılmış farklı çalışmaları ve anlamlı sonuçları da bulunmaktadır (Canbolat, 2016).

Amerikan Diyetetik Derneği - ADA (1999)'ya göre; avokado, yüksek besin değeri ve insan sağlığı üzerine kanıtlanmış yararlı etkilerinden dolayı fonksiyonel bir gıda olarak sınıflandırılmaktadır (ADA, 1999). Avokado, diyetisyenler ve uzmanlar tarafından da sıklıkla önerilmektedir. 100 gramında yaklaşık 167 kcal ile iyi bir enerji kaynağıdır. Yağ içeriğinin çoğu oleik asitten oluşmaktadır. Böylelikle de kolesterol düşürücü etkiye sahip olmaktadır. Meyve eti fizyolojisi demir bakımından zengin olmakla birlikte; fareler üzerinde yapılan deneylerle, anemiyi iyileştirici ve önleyici bir özelliğinin olduğu da kanıtlanmıştır. Ayrıca vücudun gençleşmesi, hücrelerin yenilenmesi, kalp, böbrek ve kasların sağlığı için de çok önemli bir besindir (Bayram, 2010; USDA, 2011).

Avokado yağı, özellikle kalp-damar hastalıklarının önlenmesinde insan sağlığı için faydalı olan omega yağ asitleri açısından zengindir (Ortega ve ark., 2013). Bununla birlikte, avokado yağı epidermal rejeneratif özelliklere sahip olduğu için, farmasötik ve kozmetik endüstrileri tarafından ham formda, özellikle de sabunlaşmayan fraksiyonda kullanılmaktadır (Krumreich ve ark., 2018).



Şekil 6: *P. americana* (Avokado) Bitkisinin Etkileri (Tabeshpour ve ark., 2017)

Avokado özütü kullanılarak *in vitro* ortamda yapılan bir çalışmada, özellikle tokoferol, lutein ve diğer karotenoidlerin (aktif bileşenlerin), kansere karşı büyüme engelleyici etkilere

sahip oldukları tespit edilmiştir (Lu ve ark., 2009). Randomize kontrollü klinik bir çalışmada ise, Tip 2 DM'si olan 12 kadına, 2 farklı diyet toplamda 4 hafta boyunca uygulanmıştır. Grubun ilk yarısı, tekli doymamış yağ asitlerinden zengin (avokado ve zeytinyağından elden edilen olek asit dahil) bir diyeti uygularken, diğer yarısı da yüksek kompleks karbonhidrat ağırlıklı bir diyeti uygulamıştır. Sonuç olarak, ilk grupta uygulanan diyetin (tekli doymamış yağ asitlerinden zengin) yeterli bir glisemik kontrol sağladığı ve glisemik kontrolü sağlamada iyi bir alternatif yöntem olduğu bu çalışmayla tespit edilmiştir (Lerman-Garber ve ark., 1994).

Avokadonun sulu yaprak ekstraktının kullanılmasıyla, pentilenetetrazolün (PTZ) ve pikrotoksin (PCT) gibi ilaçların uygulanmasıyla indüklenmiş sıçanlarda, nöbetlerin antagonize edilmesinden dolayı, avokadonun antikonvülzan aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Ekstrenin antikonvülzan özelliği, beyindeki GABA (Gamma Aminobütirik Asit) nörotransmitterinin beyin nörotransmisyonunu arttırabilme yeteneğine bağlanmaktadır (Ojewole ve ark., 2006).

Yine sulu yaprak ekstraktının, hiperkolesterolemili sıçanlara verilmesinin, plazma glukozu, total kolesterol ve LDL-C seviyelerinde bir miktar azalmaya ve HDL-C seviyelerinde de önemli bir artışa neden olduğu tespit edilmiştir (Brai ve ark., 2007). Avokado yağı aynı zamanda, hasta farelerle yapılmış bir çalışmada (yüksek yoğunluklu lipit) HDL-C seviyelerini etkilemezken, VLDL (çok düşük yoğunluklu lipit) ve LDL (düşük yoğunluklu lipit) kolesterol seviyelerini anlamlı bir oranda düşürmüştür (Carvajal ve ark., 2014). Avokado tohumlarında bulunan biyoaktif bileşiklerin ise, antidiyare özelliği bildirilmiştir. Bu tohumların kloroform-metanolik ekstrelerinin, kastor yağı indüklenmiş diyareli sıçanlara uygulanması, doza bağımlı bir şekilde dışkıların ıslaklığında önemli bir azalmaya neden olmuştur. Ayrıca ekstraktların LD50 (%50-ortalama öldürücü doz) değerlerinin, sıçanların 5000 mg/kg vücut ağırlığı değerinden daha düşük olduğu bulunmuştur. Bu da ekstraktların güvenilirliğini, sadece bir akut toksisite testi yardımı ile kanıtlamıştır (Odo ve ark., 2013).

Avokado, antitrombosit aktiviteden sorumlu olan asetojenik bileşiklere de sahiptir. İskemik rahatsızlıklarda trombosit agregasyonu ve trombüs oluşumu görülebilmektedir. Avokado pulpu, trombosit agregasyonunu inhibe eden ve trombüs oluşumunu önleyen çeşitli biyoaktif bileşenleri içermektedir. Bu nedenle avokado pulpu ile desteklenmiş bir diyet, iskemik rahatsızlıkları olan hastalar için son derece faydalı olabilmektedir. Bu yüzden, avokadonun antitrombosit ve antitrombik aktivitesi, bilim insanlarınca da yapılan çeşitli çalışmalarla onaylanmıştır (Rodriguez ve ark., 2015).

2.2.2.1.1. Avokadonun yüksek glukoz seviyesi üzerindeki etkisi

26 normal kilolu denek üzerinde yapılan başka bir randomize kontrollü çalışmada, Hass cinsi avokadonun yarısının tüketimi sonucunda serum insülin ve glukagon benzeri peptid-1 seviyelerinde önemli düzeyde bir düşüş bulunmuştur. Avokadoda bulunan D-mannoheptulozun ise, heksokinaz inhibisyonu ve iştahı azaltma yoluyla kilo kontrolünden ve glukozun azalmasıyla da hipoglisemik etkiden sorumlu olabileceği sonucuna ulaşılmıştır (Sabate ve ark., 2015). Başka bir çalışmada, avokadonun hipoglisemik etkileri araştırılmış ve streptozotocin ile indüklenmiş diyabetik sıçanlara, avokado yapraklarının hidroalkolik ekstraktının oral yoldan (4 hafta boyunca 0.15 ve 0.3 g/kg/gün) verilmesinin ardından, kandaki glukoz seviyeleri tekrar kontrol edilmiş ve glukoz seviyelerinin anlamlı bir şekilde düştüğü rapor edilmiştir. Bu etkinin mekanizmasını açıklamada bilim insanları, Akt/PKB sinyal yolağının aktivasyonu yolu ile sıçanların karaciğer ve kaslarındaki glukoz alımının düzenlenebildiğini ve sonuç olarak da hücre içi enerji dengesinin yine eski haline dönebildiğini ileri sürmüşlerdir (Lima ve diğ., 2012).

Rao ve Adinew (2011)'in yaptıkları bir çalışmada ise, streptozotocin ile indüklenmiş diyabetik sıçanlara, *P. americana* meyvesinin etanolik ekstraktının oral yoldan (4 hafta boyunca 300 mg/kg/gün) verilmesinin ardından, sıçanların yükseltilmiş kan glukozu seviyelerinde, HbA1c (glikozillenmiş hemoglobin) düzeylerinde, kan üre ve serum kreatininde anlamlı bir düşüş, plazma insülin ve hemoglobin seviyelerinde de anlamlı bir artış gözlenmiştir.

Ortiz-Awila ve ark. (2015)'de yaptığı bir çalışmada, streptozotocin ile indüklenmiş diyabetik sıçanlara, avokado yağı oral yoldan (3 ay boyunca 1 ml/250 g/gün) verilerek tedavi edilmiştir. Avokado yağı, reaktif oksijen türü (ROS) seviyelerini, lipid peroksidasyonunu, oksidatif stresi, elektron transport zinciri- kompleks III (enzim kompleksi)'nin aktivitesini ve beyindeki TG (trigliserid) düzeylerini azaltırken, azaltılmış glutatyon/okside glutatyon oranını ve beyin mitokondriyal fonksiyonunu da iyileştirmiştir. Ek olarak sıçanların, soleus kasındaki fosfo-PKB (Protein kinase B) ekspresyonunda da bir artış gözlemlenmiştir. Bu enzimin aktivasyonu glukozun alınmasında, GLUT-2 (Glucose Transporter-2) molekülünün sitoplazmadan hücre zarına translokasyonuna da yol açmıştır (Zdychova ve Komers, 2005; Lima ve ark., 2012).

Yine başka bir çalışmada, sakkaroz indüklenmiş diyabetik sıçanlara, %5-20 oranında avokado yağının diyetlerine eklenmesiyle, avokado yağının glukoz toleransını arttırıcı ve insülin direncini azaltıcı etkileri bu çalışmanın sonuçlarıyla da kanıtlanmıştır (Del Toro-

Equihua ve ark., 2016). Alloxan indüklenmiş diyabetik sıçanlara ise, yüksek dozda avokado çekirdeğinin (300 ve 600 mg/kg) sulu ekstresinin verilmesi, hayvanların kan glukoz seviyelerinde önemli bir düşüşe neden olmuş olup, histolojik incelemeler sonucunda; diyabetik sıçanlardaki pankreatik adacık hücrelerinin, dejeneratif bir etkide olduğu ortaya konmuş ve sulu ekstre uygulanması sonucunda avokado çekirdeğinin, bu pankreatik hücreler üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur (Edem ve ark., 2009).

Ortiz-Avila ve ark. (2015)'nin yaptıkları başka bir çalışmada, streptozotocin ile indüklenmiş diyabetik sıçanlara avokado yağı oral yoldan (3 ay boyunca 4 ml/kg) verilerek tedavi edilmiştir. Avokado yağı, sıçanların karaciğer hücre mitokondrilerindeki oksidatif stresi, lipid peroksidasyonunu ve reaktif oksijen türü (ROS) seviyelerini azaltırken, serumdaki kolesterol, trigliserid seviyesini ve indüklenmiş kilo alımını da normal düzeylere getirmiştir. Bu çalışma ile avokado yağının, karaciğer hücre mitokondrilerinin oksidatif durumu üzerinde, diyabetin zararlı etkilerini azalttığı ve hasarlı durumu iyileştirdiği tespit edilmiştir.

2.2.2.1.2. Avokadonun yüksek lipid profili üzerindeki etkisi

Dislipidemi, kanda lipoproteinler tarafından taşınan yüksek seviyedeki lipidler (kolesterol, trigliseritler veya her ikisi de) olarak da tanımlanır ve kardiyovasküler hastalıklar için ortak bir risk faktörüdür. Bu rahatsızlıkta, insanlar için total kolesterol düzeyi >200 mg/dl, HDL-C düzeyi <40 mg/dl ve trigliserid düzeyi ≥ 150 mg/dl olarak tanımlanmaktadır (Fatema ve ark., 2016). Kardiyovasküler hastalıklardan yılda 17 milyondan fazla insan hayatını kaybetmektedir. Ayrıca 2030 yılına kadar da her yıl bu hastalıktan ölen insan sayısının, 23 milyondan fazla olacağı tahmin edilmektedir (Mackay ve ark., 2004). Lipit düşürücü ilaçların, kontrolsüz bir şekilde kullanımı da bazı yan etkilere neden olabilmektedir (Hosseini ve Hosseinzadeh, 2015).

Colquhoun ve ark. (1992)'nin avokadonun hipolipidemik etkilerini değerlendirmek için yaptıkları randomize kontrollü bir çalışmada, dislipidemili 15 kadın hastaya, (3 hafta boyunca, günde yarım ila 1,5 avokado arasında) verilerek hastaların kan bulguları değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, HDL-C ve apolipoprotein A1 (ApoA1) değerleri korunurken, trigliserit, LDL-C ve apolipoprotein B değerlerinde anlamlı bir düşüş gözlemlenmiştir. Çapraz kontrollü klinik bir çalışmada ise, sekiz adet fenotip IV ve sekiz adet fenotip II dislipidemi hastası, avokadonun kan lipid düzeyleri üzerindeki etkisini incelemek için değerlendirilmiştir. Hastalar toplam kalorisinin %30'u yağ olan ve yağın da (yaklaşık

%75'i) ana kaynağı avokado olan, tekli doymamış yağ asitlerinden zengin diyeti, 4 hafta boyunca uyguladılar. Sonuç olarak, uygulanan diyet; fenotip II dislipidemi hastalarında trigliserit seviyelerinde hafif bir düşüşe neden olurken, HDL-C değerlerini her iki fenotipte de önemli bir ölçüde arttırmıştır. Bu nedenle avokado, dislipidemi tedavi etmek için iyi bir alternatif olarak kullanılabilir (Carranza ve ark., 1995).

16 hiperlipidemi hastası gönüllünün katıldığı başka bir çalışmada, avokadonun serum lipit düzeylerine etkisi değerlendirilmiştir. Gönüllüler toplam kalorinin %30'u yağ olan ve yağın da (yaklaşık %75'i) ana kaynağı avokado olan, tekli doymamış yağ asitlerinden zengin diyeti, 2 hafta boyunca uygulamıştır. Sonuçlarda, HDL-C seviyeleri artarken; artmış trigliserit, total kolesterol ve LDL-C seviyelerinde de anlamlı bir düşüş gözlemlenmiştir. Bu nedenle avokado, hiperlipidemi tedavi etmek için bir alternatif olarak kullanılabilir (Alvizouri-Munoz ve ark., 1992).

Fenotip II dislipidemisi olan 13 hastanın katıldığı prospektif, transversal ve karşılaştırmalı olarak değerlendirilen başka bir çalışmada, hastalar 4 hafta boyunca avokado içeren bir diyet uygulamışlardır. Diyetleri; %60 karbonhidrat, %10 protein ve %30 lipitten (lipitin %75'i avokado tarafından sağlanmaktadır.) oluşmaktadır. Sonuç olarak, uygulanan diyet hastalarda trigliserit ve LDL-C düzeylerini önemli bir ölçüde azaltmıştır (Carranza-Madrigal ve ark., 1997).

Avokadonun serum kolesterolü üzerine etkisinin araştırıldığı bir başka klinik çalışmada ise, 16 erkek hastanın ilk yarısına 8 hafta boyunca, diyetlerinde (günde 0.5 ila 1.5 avokado) verilerek, diğer yarısına ise sağlıklı beslenme temelli diyetleri (avokado eklenmeden) uygulatarak, hastaların kan bulguları değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, deneklerin ilk yarısında serum total kolesterol düzeylerinde (serbest form ve ester form olmak üzere), (%9-43 arasında) anlamlı bir düşüş görülmüş olup, serum fosfolipit değerlerinde de önemli bir azalma gözlemlenmiştir. Diğer yarısında ise nötral bir etki yaşanmıştır. Ancak deneklerin hiçbirinde toplam kolesterol düzeyinde bir artış görülmemiştir. Ayrıca diyetlerine ilaveten avokado eklenmiş olan hiçbir hastada da herhangi bir kilo artışı vakasına rastlanmamıştır (Carranza-Madrigal ve ark., 1997).

Hiperkolesterolemik bireylerde, avokado ile zenginleştirilmiş diyetler; yüksek karbonhidratlı diyetlerle veya avokado içermeyen diğer diyetlerle karşılaştırıldığında, avokado içeren diyetler, LDL-C ve trigliserit düzeylerini anlamlı seviyede düşürerek ve HDL-C değerlerini de arttırarak, kan lipid profili üzerine olumlu etkiler göstermişlerdir. Normolipidemik bireylerde ise avokado ile zenginleştirilmiş olan bu diyetler, trigliserit düzeylerini yükseltmeden ve HDL-C değerlerini düşürmeden, LDL-C değerlerini de

düşürerek sağlıklı bir lipid profili oluşturmaya yardımcı olmuştur. Bu çalışmalar, avokado ile zenginleştirilmiş diyetlerin, diğer düşük yağlı ve yüksek karbonhidratlı tipik diyetlere kıyasla kan lipid düzeyleri üzerinde daha olumlu etkiler gösterdiğini kanıtlamıştır. Bununla birlikte, tüm bu çalışmalar az sayıda denek (yaklaşık 13-37 kişi) kullanılarak, sınırlı süre (yaklaşık 1-4 hafta) içerisinde gerçekleştirildiğinden, avokadonun kan lipid düzeylerini ve kolesterolü düşürmedeki etkisini belirlemek ve sağlık üzerine olan etkisini daha iyi araştırabilmek ve anlayabilmek için, daha fazla kişiyle gerçekleştirilecek uzun dönem çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

2.2.2.1.3. Avokadonun obezite üzerindeki etkisi

Obezite, negatif enerji dengesine neden olan sağlıksız beslenme alışkanlıkları sonucunda, adipoz dokudaki yağ içeriğinin artmasıyla karakterize kritik, global bir enerji metabolizması bozukluğu hastalığıdır. Yetişkinlerle birlikte çocuklarda da görülebilen ciddi bir rahatsızlıktır. Kalıtım, etnik köken, cinsiyet, fiziksel aktivite yetersizliği gibi genetik ve çevresel birçok faktörden de etkilenmektedir. McKinsey Global Enstitüsü raporuna göre; şuan dünya üzerinde 2,1 milyardan fazla insan (dünya nüfusunun yaklaşık %30'u) aşırı kilolu veya obezdir. Bu rakamın 2030 yılına kadar %41'lere kadar çıkacağı tahmin edilmektedir. (Savaşhan, 2015; Monica ve Geetha, 2016).

Bazı klinik çalışmalar yine avokado meyvesinin, diğer meyveler gibi kilo vermeye ve kontrolünü sağlamaya yardımcı olabileceğine işaret etmektedir (USDA ve HHS, 2010).

45 aşırı kilolu veya obez hasta üzerinde yapılan, randomize ve çapraz kontrollü bir klinik beslenme çalışmasında, avokado tüketiminin hipolipidemik etkisi (günde 136 gram Hass cinsi avokado tüketimi ile) ve kardiyovasküler risk faktörleri üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak, avokadonun LDL partikül sayısını, küçük yoğunluklu LDL-C miktarını ve LDL/HDL oranını taban çizgisinden önemli ölçüde azalttığı ve kardiyometabolik risk faktörleri üzerinde önemli etkiler gösterdiği tespit edilmiştir (Unlu ve ark., 2005). Kilo kaybı ve serum lipidleri üzerine avokado etkisini değerlendirmek için, avokado (6 hafta boyunca günde 1 tane olmak üzere), BKİ'si 27-44 kg/m² aralığındaki aşırı kilolu-obez hastalara verilmiştir. Çalışma sonucunda, vücut ağırlığında, beden kitle indeksi (BKİ)'nde ve vücut yağ yüzdesinde anlamlı bir azalma rapor edilmiştir (Unlu ve ark., 2005). Avokado pulpunun vücut ağırlığı üzerine etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada ise, 230 gram avokado, hiperkolesterolemik sıçanların diyetlerine eklendiğinde, 4 hafta sonunda avokado ile

beslenen sıçanların çekum ağırlığının daha yüksek; besin tüketimi, vücut ağırlık artışı ve hepatik toplam yağ seviyesi miktarlarının ise daha düşük olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada avokadonun iştah depresanı olduğu ve avokado pulpunun hepatik yağ metabolizmasına müdahale ettiği sonucuna da varılmıştır (Monika ve Geetha, 2015).

P. americana'nın (25, 50, 100 ve 200 mg/kg/gün doz ile) hidroalkolik meyve ekstrelerinin, obezite kaynaklı yüksek yağlı diyet uygulatılan sıçanlar üzerindeki hipolipidemik ve vücut ağırlığını azaltıcı etkisi, 14 hafta boyunca araştırmacılar tarafından araştırıldı. Sıçanların kan bulguları yorumlandı. Deney sonucuna göre; kan ve karaciğer lipitleri, lipit peroksidasyon (LPO) enzimi, yağ asidi sentaz (FASN) enzimi ve karaciğerde bulunan HMG-KoA redüktaz gibi lipit metabolizmasında görevli olup anahtar rol oynayan enzimlerin aktivitesinde anlamlı bir azalma; antioksidan durum aktivitesi ve lipoprotein lipaz (LPL) enzim aktivitesinde ise anlamlı bir artış tespit edilmiştir. Bu durumun meydana gelmesindeki muhtemel sebep ise; muhtemel mekanizmanın, karaciğerdeki FASN ve HMG-CoA redüktaz enzimlerinin aktiviteleri sebebiyle gerçekleşmesi olarak tahmin edilmektedir (Monika ve Geetha, 2016). 26 sağlıklı-normal kilolu yetişkin üzerinde yapılan tek kör, çapraz postprandial bir çalışmada; öğle yemeğinde tüketilen bir avokadonun, kişinin kendisinin bildirdiği açlık ve yeme isteğini önemli ölçüde azalttığı, kişinin normal diyetiyle karşılaştırıldığında ise avokado eklenmiş diyetin, doygunluğu daha çok arttırdığı anlamlı olarak ortaya konmuştur ($p < 0.002$) (Wien ve ark., 2011).

Padmanabham ve Arumugam (2014)'ın yaptığı bir çalışmada, *P. americana*'nın (100 mg/kg/gün doz ile) hidroalkolik meyve ekstresinin, obezite kaynaklı yüksek yağlı diyet uygulatılan sıçanlar üzerindeki hipolipidemik ve antiobezite etkisi, 14 hafta boyunca araştırmacılar tarafından test edildi. Çalışmanın sonuçlarına göre; BMI, oksidatif stres, total yağ kitlesi (TFP) ve adipozite indeksinde (ADI) anlamlı bir düşüş olduğu bulundu. GSH (glutatyon), adiponektin, adiponektinin Mrna ekspresyonu, peroksizom proliferatör aktivite reseptör- γ (PPAR- γ) ve protein ekspresyonunda ise anlamlı bir artış gözlenmiştir. Çalışma sonucunda da avokadonun, hiperlipidemi ve obezite riskini azaltabilen adiponektin ve PPAR- γ 'nin Mrna ekspresyonunu artırarak hipolipidemik ve anti obezite aktivitesine sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

P. americana'nın (10 mg/kg/gün doz ile) sulu ve metanolik yaprak ekstraktlarının, vücut ağırlığı ve karaciğer lipidleri üzerine HCD (obezite kaynaklı yüksek yağlı diyet) uygulatılan sıçanlar üzerindeki etkisi ise, 8 hafta boyunca araştırılmış ve bu araştırma, vücut ağırlığında sırasıyla, %14 ve %25 oranlarında bir azalma ile sonuçlanmıştır. Metanolik özüt ayrıca, karaciğer ağırlığında minimal ortalama (% 8) oranında bir düşüşe de neden olmuştur. Bu

çalışma sonucunda, avokado yaprağı ekstrelerinin, sıçanlarda yağ dokusunda biriken lipidlerin katabolizmasına ve vücut ağırlıklarında bir azalmaya neden olduğu bildirilirken, karaciğer lipit seviyelerini ise etkilemediği sonucuna varılmıştır (Brai ve diğ., 2012).

Mevcut çalışmalar avokadonun, vücuttaki çeşitli mekanizmalar sayesinde antiobezite etkisinin yanında aynı zamanda, gıda alımını da kontrol etmek için açlık-tokluk durumundan sorumlu olan leptin hormonu aktivitesi üzerinde de önemli bir etkiye sahip olduğunu kanıtlamıştır (Monika ve Geetha, 2015). Ayrıca bilim insanları, çeşitli keşifsel çalışmalarında, MUFA'dan zengin diyetlerin; abdominal yağ birikimine ve diyabetik sağlık komplikasyonlarının gelişimine karşı korunmada kişilere yardımcı olduğunu da bildirmektedir (Tentolouris ve diğ., 2008; Paniagua ve diğ., 2007).

2.2.2.1.4. Avokadonun yüksek kan basıncı üzerindeki etkisi

Hipertansiyon, dünya çapındaki tüm ölümlerin yaklaşık %12,8'inden (yaklaşık 7,5 milyon) sorumlu ciddi bir hastalıktır. Koroner kalp hastalığı, hemorajik inme, iskemik ve prematüre ölümler gibi rahatsızlıklar için de önemli bir risk faktörü olduğu tahmin edilmektedir. Ayrıca hipertansiyon; kalp yetmezliği, periferik vasküler hastalıklar, retinal kanama, böbrek ve görme bozuklukları gibi bazı ciddi komplikasyonlara da eşlik etmektedir. Türkiye'de de 15-16 milyon civarında hipertansiyon hastasının olduğu tahmin edilmektedir. Ülkemiz genelinde komplikasyonları ve risk faktörleri göz önüne alındığında önemli bir halk sağlığı sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır (Ese, 2006; Papathanasiou ve ark., 2015). Bu yaygın hastalıkta, ortalama sistolik kan basıncı ≥ 140 mmHg ve ortalama diyastolik kan basıncı ≥ 90 mm olarak tanımlanmaktadır (CDC, 2012). Tiyazidler, anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri, beta blokerlar ve kalsiyum kanal blokerları gibi antihipertansif ilaçlar; mortalite, inme, koroner kalp hastalığı ve/veya kardiyovasküler hastalık gibi hastalıkların riskini azaltsalar bile, advers olaylar ve çeşitli ajanların karmaşıklığı tedavinin tamamlanma süresini geciktirmektedirler. Bu nedenle, tamamlayıcı ve bitkisel ilaçlar, KVH (kardiyovasküler hastalık) riski olan hastalarda artan bir popülerlik kazanmaktadır ve hipertansiyonun tedavisi için çok düşük yan etkilere sahip olan tıbbi bitkilerin daha kapsamlı bir şekilde araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır (Xiong ve ark., 2015).

Avokado yaprağının sıvı ekstraktının, plazma LDL-C, TC, ALT ve AST düzeylerine etkisini değerlendirmek için, yeni tanı almış; plazma hipertansif, plazma kolesterol ve BP'de anormal artış gösteren 50 hasta, 60 ml/gün avokado ekstraktı ile tedavi edilmiştir. Sonuç

olarak, LDL-C ve TC'nin plazma seviyelerinde önemli bir azalma tespit edilirken, deneklerde ALT ve AST değerlerinde de bir artış olduğu tespit edilmiştir. Bu ekstraktın hepatotoksisiteye neden olmasına rağmen, aynı zamanda hipertansiyon tedavisinde de kullanılabileceği sonucuna varılmıştır (Olaniyan, 2014).

Hipertansif sıçanlar, avokado bitkisinin BP (kan basıncı) ve lipit profili üzerindeki etkisini değerlendirmek üzere, 4 hafta boyunca, *P. americana*'nın (200, 500 ve 700 mg/kg/gün) sulu çekirdek ekstresi ile muamele edilmiştir. 500 mg / kg'lık dozdaki ekstrakt; plazma, böbrek, karaciğer ve kalpteki KB, LDL-C, TG düzeylerinde olduğu kadar BP'de de önemli bir azalma sağlamıştır. Bu bitkinin çekirdek ekstraktının 500 mg/kg'lık dozu ile tedavisinin sadece BP'yi düşürmekle kalmayıp aynı zamanda uygun bir lipit profili de sağlayabileceği sonucuna varılmıştır (Imafidon ve Amaechina, 2010).

P. americana'nın taze yaprağı, *Cymbopogon citratus*'un taze yaprağı, *Citrus medica* (ağaç kavunu) meyvesi ve bal karışımından elde edilen sulu ekstrenin antihipertansif etkisini değerlendirmek için (5 hafta boyunca sulu ekstre, 50, 100 ve 150 mg/kg /gün) uygulanmış ve sıçanlarda etanol ve sükroz kaynaklı hipertansiyon rahatsızlığı değerlendirilmiştir. Ekstrakt; BP (kan basıncı), HR (kalp atım hızı), MDA, TC, LDL-C, TG, AI, glukoz, protein, AST, ALT, kreatinin, potasyum, sodyum ve albümin düzeylerinde azalmaya neden olurken; HDL-C, GSH düzeyleri, nitritler, SOD ve CAT aktivitelerini de arttırmıştır. Sonuç olarak bu çalışmadan, ekstraktın antihipertansif aktivite etkisi gösterdiği çıkarımı yapılabilir (Dzeufiet ve ark., 2014). Anjiyotensin II'ye karşı BP yanıtı ve kalp ile böbrek zarlarının yağ asidi bileşimi, farelerde avokado yağı ile zenginleştirilmiş diyet uygulanarak (2 hafta boyunca % 10'luk ekstrakt ile) değerlendirilmiştir. Avokado yağı, kalp zarının oleik asit içeriğini arttırırken, α -linolenik asit konsantrasyonunu azaltmış ve böbrek zarının da araşidonik asit içeriğini arttırmıştır. Sonuçlar, bu diyetin, söz konusu zarlardaki yağ asidi içeriğini dokuya özel bir şekilde değiştirebildiğini göstermiştir. Bu çalışma ile, renal araşidonik asitteki artışın, diyet içeriğinin vasküler yanıtlarda önemli bir faktör olabileceği, kardiyovasküler sistem için istenen etkilerin yalnızca yağ bileşenlerine atfedilemeyeceği ve avokado meyve ve yapraklarında bulunan diğer aktif bileşenlerin de önemli olduğu öne sürülmüştür (Salazar ve diğ., 2005).

P. americana'nın sulu çekirdek ekstresi (4 hafta boyunca 200, 500 ve 700 mg/kg/gün) uygulanmış ve antihipertansif ve antihepatotoksik etkisini değerlendirmek için kullanılmıştır. Sonuçlarda, ekstrenin tüm doz seviyelerinde; kilo alımını, BP ve ALP aktivitesini önemli

ölçüde düşürdüğü gözlemlenmiştir. Protein, albümin, ALT ve AST seviyelerinde ise anlamlı bir değişiklik görülmemiştir. Nihayetinde, avokado tohumlarının antihipertansif bir ajan olarak kullanılabileceği ve ayrıca antihepatotoksik aktivite de gösterdiği sonucuna bu çalışma ile varılmıştır (Imafidon, 2010). Avokadonun vazorelaksan etkisinin ise; endotelyumdan üretilen bazı rahatlatıcı faktörlerin sentezi veya salınması, prostanoidin salınması ve kalsiyum kanalları yoluyla Ca^{+2} akışının inhibe edilmesi yoluyla olduğu da kanıtlanmıştır (Owolabi ve ark., 2005).

2.2.2.1.5. Avokadonun atheroskleroz üzerindeki etkisi

Kardiyovasküler risk profili belirteçleri, avokado yağı verilerek; işlenmiş sakkarozla indüklenen bir sıçan modelinde, metabolik değişikliklerle birlikte değerlendirilmiştir. Yağ, HDL seviyelerinde hiçbir değişiklik göstermezken; TG, VLDL ve LDL seviyelerini anlamlı bir şekilde düşürmüştür. Aynı zamanda, enflamatuar süreçlerin bir göstergesi olan yüksek hassasiyetli C-reaktif proteini konsantrasyonunu da düşürmüştür. Bu çalışmanın sonuçları, avokado yağ tüketiminin enflamatuar süreçleri azalttığını ve bu biyobelirteçlerin iyileştirilmesi yoluyla MetS gelişimini önleyebildiğini kanıtlamıştır (Carvajal-Zarrabal ve diğ., 2014).

Yapılan başka bir çalışmada, *P. americana*'nın sulu yaprak ekstresinin kardiyovasküler etkileri, üç farklı hayvan modelinde incelenmiştir. İlk deneyde, ekstraktın miyokardiyal kontraktıl performans üzerine etkisi, kobay izole atriyal kas şeritleri üzerinde değerlendirildi. İkinci deneyde ise, ekstrenin vazodilatatör etkisi *in vitro* olarak sağlıklı sıçanların izole portal venleri ve torasik aortik halkaları üzerinde değerlendirilmiştir. Üçüncü deneyde ise, ekstrenin hipotansif etkisi, sağlıklı normotensif ve hipertansif sıçanlarda *in vivo* olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlarda, ekstraktın bu hayvan modellerinde bradikardi, vazorelaksasyon ve hipotansiyona neden olduğu gösterilmiş ki bu da, hipertansiyon ve bazı kardiyak disfonksiyonların yönetiminde ve tedavisinde avokado kullanımını esaslı olarak teşvik etmektedir (Ojewole ve ark., 2007).

Başka bir çalışmada, *P. americana* (4 hafta boyunca 200, 400, 800 ve 1600 mg/kg/gün) metanolik çekirdek ekstraktlarının, protrombin zamanı (PT) ve aktive parsiyel tromboplastin zamanı (APTT) testleri üzerindeki etkisi farelerde incelenmiştir. Sonuçlar, PT ve APTT'deki artışın doza bağımlı olduğunu göstermiştir. Ekstrakt, PT ve APTT uzadıkça antikoagülan aktivite gösterdiği için avokadonun, kardiyο koruyucu ajan olarak da kullanılabileceği bu

çalışmayla ispat edilmiştir (EE ve ark., 2015). Avokado meyve özleri farelerde, fitokimyasal, toksikolojik, biyokimyasal ve hematolojik özellikleri açısından incelenmiştir. Ekstrakt tedavisi; TC, VLDL, LDL dahil olmak üzere karaciğer ve kalp enzimlerinin aktivitesinde azalmaya neden olurken; HDL seviyeleri, PT ve APTT ile kaolin miktarını arttırmıştır. Ekstrenin, önleyici ve olası iyileştirici özellikleri sayesinde potansiyel bir KVH inhibitörü olarak davrandığı sonucuna da varılmıştır. Kan pıhtılaşma zamanının düzenlenmesindeki rolünün, önemli K vitamini içeriği sayesinde olduğu da tahmin edilmektedir (Gouegni ve Abubakar, 2013).

2.2.2.1.6. Avokadonun antioksidan etkisi

Yapraklar, pulp, tohumlar, kabuklar ve kökler gibi avokadonun farklı kısımlarından elde edilen ürünlerin, antioksidan aktiviteleri nedeniyle metabolik sendromun farklı etkileri üzerinde önemli koruyucu özellikte olduğu kanıtlanmıştır. Böylece meyve, uygun koşullar altında, oksidatif stres ve hücrel oksidasyon reaksiyonunu da nötralize edebilmektedir (Abdulazeez ve Ponnusamy, 2016; Wang ve ark., 2016). Avokadonun antioksidan aktivitesi ve α -amilaz ile α -glukosidazın inhibisyonu gibi farklı mekanizmalarla antidiyabetik etkisi üzerinde de umut vaadedici çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Ajani ve Olanrewaju, 2014). Ayrıca avokadonun hipolipidemik etkisinin, yüksek karotenoid içeriği nedeniyle antioksidan aktivitesi sayesinde olduğu da gösterilmiştir. Avokadonun antioksidatif ve hipotansif aktivitesi; biyokimyasal ve oksidatif durumun iyileştirilmesi ve karaciğer, böbrek ve vasküler endotelyumun oksidatif stres parametrelerine karşı korunması yoluyla kanıtlanmıştır (Dzeufiet ve ark., 2014). Bu yüzden, diyetle avokadonun da yer alması, lipid metabolizması üzerinde antioksidatif özellikler de göstermesi nedeniyle, KVH'lerin önlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır, denebilir.

P. americana yapraklarının farklı fitobileşen maddeleri izole edilmiş ve bunların antioksidan aktiviteleri DPPH ve H₂O₂ analiz yöntemleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Bu çalışma ile yaprakların oksidatif stres ile ilişkili çeşitli hastalıkların ilerlemesini önlemede yardımcı olabilecek antioksidan aktiviteye sahip olduğu sonucuna varılmıştır (Owolabi ve arkadaşları, 2010). Başka bir diğer çalışmada ise, *P. americana* yapraklarının farklı fitobileşenleri izole edilmiş ve antioksidan aktiviteleri DPPH, NO indirgeyici güç ve radikal süpürücü aktivite analizleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Bu çalışma ile de, avokado

metanolik ekstraktının önemli bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu sonucuna varılmıştır (Asaolu ve ark., 2010). Başka bir çalışmada ise avokado meyvesinin, iyi miktarda askorbik asit, toplam fenol konsantrasyonu, antioksidan kapasitesi ve yüksek seviye katalaz, askorbat peroksidaz, GR aktiviteleri olduğu kanıtlanmıştır (Wang ve ark., 2016).

Avokado ekstresi ile oral yoldan tedavi edilen (1 ml/kg/gün, oral 4 hafta boyunca) dietil nitrozamin ile indüklenmiş sıçanlarda, yüksek seviye (TNF- α) tümör nekrozis faktör- α , siklooksijenaz-2, lipoksijenaz, kaspaz-3, DNA fragmentasyonu, NO, MDA, TP, serum lipid profili ve karaciğer fonksiyonları incelenmiştir. Sonuçlar, avokadonun dietil nitrozamin tarafından uyarılan oksidatif stresi, enflamasyonu ve apoptozu azaltabildiğini göstermiştir (Hamouda, 2015).

Yine başka bir çalışmada, avokadonun antioksidan aktivitesi, aşağıdaki gibi çeşitli kısımlarda çeşitli farklılıklar göstermiştir. DPPH testi kullanılarak antioksidan kapasite; yaprak> kabuk> yağı> posası şeklinde bulunmuştur. Antioksidan aktivite, toplam flavonoid içeriği ile pozitif korelasyon göstermiş ve anlamlı bulunmuştur, bu sonuçlar ise gelecekteki antioksidan ürünler için ışık tutacaktır (Kumar ve Cumbalı, 2016).

2.2.2 Oğulotu (*Melissa officinalis*) Bitkisi Hakkında Bilgiler

Tablo 4: *Melissa officinalis* Bitki Sistematigi (Özer ve ark., 2001; Katalinic, 2006; Başkal, 2017)

Alem:	<i>Plantae</i>
Bölüm:	<i>Angiosperms</i>
Takım:	<i>Lamiales (Labiatae)</i>
Familya:	<i>Lamiaceae</i>
Cins:	<i>Melissa</i>
Tür:	<i>Melissa officinalis</i>

Melissa officinalis bitkisi, limon kokulu olmakla birlikte tıbbi amaç için de kullanılan bir bitkidir. Çok yıllık otsu bir bitki olup; Güney Avrupa, Kafkaslar, Orta Asya, Kuzey Afrika ve Kuzey Amerika kökenlidir. Diğer bir ismi de ‘oğulotu’dur. Ülkemizde limonotu, limon

nanesi ve kovan otu olarak da bilinir. Bitkinin Latince ismi *Melissa* ‘arı yaprağı’ anlamına gelmektedir. Kökenindeki ‘mel’ kelimesinin anlamı ise ‘bal’ demektir ve bitki nektarca zengin olduğundan, genelde arıları beslemek için kullanılmıştır. Yunanca’da ise ‘bal arısı’ anlamına gelir. Türkiye’deki yayılış bölgesi ise Akdeniz Bölgesi ve Anadolu’nun kıyı kesimleridir (Özer ve ark.,2001; Katalinic, 2006; Başkal, 2017).

Melissa officinalis L (Lamiaceae) bitkisinin yaprakları; sindirim, karminatif, antispazmolik, sedatif, hipotansif, hipoglisemik, hipolipidemik, antikanser, anksiyolitik, antinosiseptif, sitotoksik, analjezik, vazorelaksan, hafızayı güçlendirici, antiinflamatuvar, antiseptik, antivirütik, gaz giderici, tonik, adet uyarıcı, spazmolitik, antiülser, antifungal, antiparazitik, ateş düşürücü, ferahlatıcı ve diüretik özelliktedir ve fonksiyonel gastrointestinal bozukluklar, soğuk algınlığı, astım, bronşit, kalp yetmezliği, amenore, aritmiler, ülser, yaralar, baş ağrısı ve romatizma tedavisi için de kullanılmaktadır. Bitkinin metanol ekstresi ise, yüksek miktarda flavonoid antioksidan konsantrasyonuna sahiptir (Özer ve ark.,2001; Katalinic, 2006; Başkal, 2017). Ayrıca bitkinin toprak üstü kısımları halk sağlığında; Sakarya yöresi civarında, migren ve depresyon tedavisinde; Kırklareli yöresi civarında ise diyabet, kalp rahatsızlıkları, astım, bronşit ve kanser gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Tuzlacı, 2006; Şaşkara ve ark., 2010).



Şekil 7: *Melissa officinalis* (Oğulotu) Bitkisi (Akgül, 1993)

Bitkinin çeşitli kullanım alanları da mevcuttur. Yeşil veya drog herba kısımları; soslarda, salatalarda, et yemeklerinde, çorbalarda ve tatlılarda aroma verici olarak kullanılmaktadır. Ayrıca; çay yapımında, alkollü içeceklerde ve likör yapımında da kullanılmaktadır (Akgül, 1993). İnsan sağlığı açısından kullanımı güvenli kabul edilmekle birlikte, kadınlarda adet düzenleyici etkisinden dolayı hamilelerde kullanımı pek önerilmemektedir (Sarı, 2001). Bitkiden; depresyon tedavisinde, stres, anksiyete ve

uykusuzluk gibi durumlarda; uçucu yağ kısmından ise aromaterapide yararlanılmaktadır (Abuhamdah ve Chazot, 2008).

Gebelik ve emzirme döneminde; bitkinin sınırlı kullanımda fetüs malformasyonu veya zararlı bir etkisi yoktur. Ancak doktora danışılmadan da kullanılmamalıdır. (WHO Monographs, 1999; Mills ve Bone, 2005). Bitkinin taşıdığı etkin maddelerin süte geçmesi sonucunda bebekte sedasyon görülebilmektedir (Mills ve Bone, 2005).

Geleneksel tıpta sulu ve alkollü ekstraları; baş ağrısı, kolik, mide bulantısı, hazımsızlık, anemi, sinirlilik, vertigo, halsizlik, astım, bronşit, senkop, amenore, kalp yetmezliği, uykusuzluk, epilepsi, depresyon, psikoz, histeri, ülser ve yaraların tedavisi için kullanılmaktadır (WHO, 2004; Karasová ve Lehotay, 2005; Dastmalchi ve diğ., 2008). Tüm bu özellikleri, bu türde yüksek oranda bulunan fenolik asitler, özellikle de rosmarinik asit (bu bitki için önemli olan belirleyici bir bileşik) gibi hidroksisinnamik asit türevleri ile ilgilidir (Fecka ve Turek, 2007).

Kullanım şekli ve dozu:

- Tıbbi çay (demleme): 6-8 g/gün
- Ekstre (1:1): 2-4 ml/gün (haricen)
- Tentür (%45): 3* 2-6 ml/gün

Uyarılar: Tiroit ilaçları kullananlar ile anne adayları ve emzirenler kullanmamalıdır. (Wobling ve Leonhardt, 1994; Koytchev ve ark., 1999).

M. officinalis'te başka fenolik bileşikler de rapor edilmiştir, karmaşık bir kimyasal bileşime sahiptir. Bunlardan bazıları; luteolin 3-O-glucuronide, apigenin, tanenler, hidroksisinnamik asitler (%4-7), polifenolik asitler (% 6'ya kadar rosmarinik asit, p-kumarik, protokateşik ve kafeik asitler) ve % 0.37'ye kadar monoterpen ve monoterpen glikozitlerinden (% 40'tan fazla), seskiterpenlerden (% 35'ten fazla), triterpenlerden (ursolik ve oleanolik asitler) ve flavonoidlerden (quercitrin, rhamnositrin, luteolin) oluşan uçucu esansiyel yağlardır. En önemli terpenoidler arasında ise; sitral, sitronelal, geraniol, neral, linalol, farnesil asetat, humulen, kariyofil ve eremophilen bulunur. Fenolik asitler, geniş bir biyolojik aktivite yelpazesi gösteren, doğal olarak oluşan bileşiklerin büyük bir kısmını oluşturan ikincil metabolitlerdir. Fenolik asitler *M. officinalis* L'nin önemli biyoaktif bileşenleridir; aralarında rosmarinik, kafeik, klorojenik ve ferulik asitler özellikle ilginç özelliktedir. Bir literatür taramasında, rosmarinik asidin antiinflamatuvar, antibakteriyel ve antiviral aktivite

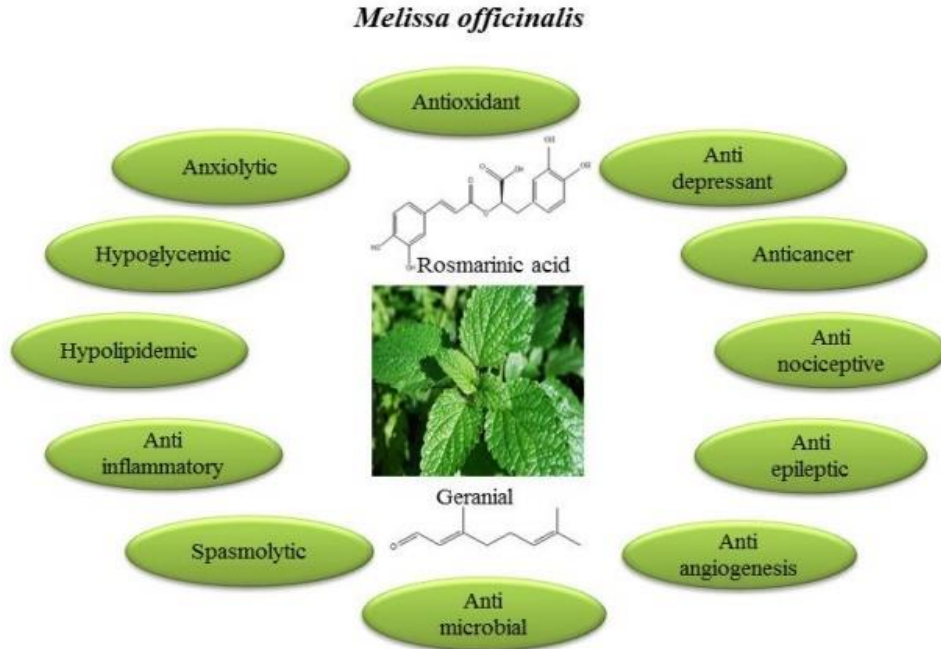
gösterdiği, atopik dermatiti azalttığı ve Alzheimer hastalığını da belli bir derecede önlediği gösterilmiştir (Huang ve ark., 2009; Fujimoto ve Masuda, 2012). Ferulik asit; güçlü antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antitrombotik ve antikanser aktivitelere sahiptir. Klorojenik asit; anti-inflamatuvar, anti-bakteriyel ve antiobezite özellikleri gösterirken; kafeik asit, anti-inflamatuvar, antioksidatif ve immünomodülatör etkilere sahiptir (Anwar ve ark., 2012).

Main Categories		Diagnosed Organ
Terpenes	α -Pinene cis-p-Meth-2 en-7-ol 2-Pinen-4-one Nerol acetate Citronellal, methyl citronellate, citral, citral a (geranial), citral b (neral), ocimene, linalool, and ethric oil	Leaf, oil
Phenolic compounds	Nerol Patchoulene IR- α -Pinene Isogeraniol Geraniol Verbenol Carane Geraniol acetate	
Nitrogen compounds	Menthol Cinerone cis-Z-Bisabolene oxide Verbenone Aromadendrene oxide β -Caryophyllene β -Caryophyllene oxide Aromadendrene oxide Andropholide Caryophyllene oxide cis-Myrtanol Germanicol Longifolene Himachalene Himachala-2,4-diene Cubenole Pimara-7,15-dien-3-one Cycloisolangifolene Cholest-5-en-7-ol Lupan-3-ol acetate Eugenylglycoside Dehydroabietane diterpene hydrocarbon	Leaf, oil Leaf, oil Leaf Leaf

Şekil 8: *M. officinalis* (Oğulotu) Bitkisinin Kimyasal Bileşimi (Sepide ve ark, 2017)

2.2.3.1. Oğulotu (*Melissa officinalis*) bitkisi ve hastalıkları tedavi etme (tıbbi) özelliği ile ilgili literatür çalışmaları

Graphical abstract



Şekil 9: *M. officinalis* (Oğulotu) Bitkisinin Çeşitli Özellikleri (Shakeri ve ark, 2016)

2.2.3.1.1. Oğulotunun antimikrobiyal etkisi

Bu kısımda antimikrobiyal etki olarak; *Melissa officinalis* L. bitkisinin, antiparazitik, antibakteriyel ve antiviral etkileri incelenmiştir.

Kafeik, rosmarinik ve ferulik asitler *M. officinalis* L.'nin antiviral aktivitesine katkıda bulunmaktadır (Schnitzler ve ark., 2008). Çift-kör olarak yapılan bir çalışmada, Melissa yapraklarından özel olarak hazırlanmış kurutulmuş özütler incelendi ve aynı zamanda bu bitkinin *in vitro* herpes simpleks virüsü enfeksiyonlarına karşı antiviral aktivitesi test edildi. Sonuç olarak, bu bitkinin tedavide kullanıldığında, enfeksiyonun çok erken aşamalarında etkili olduğu da gösterilmiştir (Dimitrova ve ark., 1993).

Herpes simplex labialis'in tedavisi için standartlaştırılmış Melissa kreminin etkinliğini kanıtlamak amacıyla çift kör, plasebo kontrollü, randomize bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Yapılan bu çalışma sonucunda, test edilen formülasyonun bu hastalığın tedavisi için etkili

olduğu sonucuna varılmıştır. İyileşme sürecinin kısalmasına ek olarak, Melissa kremi enfeksiyonun yayılmasını önlemede faydalı bulunmuş ve herpesin kaşıntı, karıncalanma, yanma, bıçaklanma, şişlik, gerginlik ve eritem gibi tipik semptomlarına hızlı bir şekilde yanıt bulunmuştur. Melissa ekstraktının farklı etki mekanizması, herpes virüsünün direncinin gelişmesini de engellemektedir (Wolbling ve Leonhardt, 1994). *In vitro* yapılan başka bir çalışmada, Melissa bitkisinin anti-herpes aktivitesi araştırılmış ve Melissa ekstraktının, 1,5 mg/ml'lik çok düşük konsantrasyonlarda bile, herpes simpleks virüsü tip 1'e (HSV-1) karşı yüksek virüsidal aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca, rosmarinik asidin esas olarak Melissa ekstresinin antiviral aktivitesine katkıda bulunduğu da belirtilmiştir (Astani ve ark., 2012). Asiklovir ile karşılaştırıldığında, herpes simpleks virüsü tip 2'ye (HSV-2) karşı, Melissa yapraklarının hidroalkolik ekstresi araştırılmıştır. Melissa, HSV-2'nin, Vero hücreleri üzerindeki, 0.025 ila 1 mg/ml'lik toksik olmayan konsantrasyon aralığında sitopatik etkiyi azalttığı gösterilmiştir. Bu çalışma, bu bitkinin başta rosmarinik asit olmak üzere sinamik asit benzeri bileşikler aracılığıyla da anti-herpes etkisini tekrar kanıtlamaktadır (Mazzanti ve ark., 2008). Cilde nüfuz etmesini sağlayan yüksek melisa özlü yağı ve yüksek bir seçicilik indeksi olan lipofilik doğası göz önüne alındığında, *M. officinalis*'in yağı, herpetik enfeksiyonların topikal tedavisi için uygun olarak kullanılabilir (Wolbling ve Leonhardt, 1994).

M. officinalis'in uçucu yağ bileşenlerinin etkileri, Hep-2 hücrelerinde HSV-2 replikasyonunda değerlendirilmiştir. Beş farklı konsantrasyonda (25, 50, 100, 150 ve 200 mg/ml) uçucu yağlar incelenmiştir. HSV-2'ye karşı toksik olmayan konsantrasyonların antiviral aktivitesi test edilip HSV-2'nin replikasyonu inhibe edilmiş ve bu çalışma ile *M. officinalis* L ekstresinin bir anti-HSV-2 maddesi içerdiği de kanıtlanmış olmaktadır. Yine başka bir çalışmada, *Melissa officinalis*'in sulu bir özütü ve fenolik bileşiklerden kafeik asit, pumarik asit ve rosmarinik asit *in vitro* olarak HSV-1 asiklovirsensitif ve asiklovire dirençli suşların klinik izolatlarına karşı antiviral aktiviteleri açısından incelenmiştir. Bu sonuçlar esas olarak rosmarinik asidin Melissa ekstresinin antiviral aktivitesine katkıda bulunduğunu göstermektedir. Herpes virüslerinin hücrelere nüfuz etmesi sırasıyla, ilaca duyarlı ve ilaca dirençli virüsler için % 80 ve % 96 oranlarında Melissa özütü tarafından engellenmiştir (Wolbling ve Leonhardt, 1994).

M. officinalis L yapraklarından elde edilen uçucu yağ, *in vitro* antimikrobiyal aktivitesi açısından değerlendirilmiştir. Sonuçlarda, uçucu yağın esas olarak 5 insan patojenik bakterisine, 1 maya (*Candida albicans*'a) ve test edilen 2 fitopatojenik fungiye karşı, yani hedeflenen tüm mikroorganizmalara karşı yüksek bir antimikrobiyal aktivite gösterdiği

kanıtlanmıştır (Mazzanti ve ark., 2008). *M. officinalis* esansiyel yağının antimikrobiyal aktivitesi araştırılmış ve en etkili antibakteriyel aktivitenin *Shigellasoni*'nin çok tabakalı bir suşu üzerinde olduğu gösterilmiştir. *Trichophyton* türlerinde de önemli bir antifungal aktivitesi olduğu görülmüştür. Romen *M. officinalis*'ten elde edilen uçucu yağın antimikrobiyal özellikleri denenmiştir, bu çalışmada da *C. albicans*'a karşı yüksek bir aktivite gözlenmiştir. Gram-negatif bakteri ise, Melissa yağından etkilenmemiştir. Ekstrelerin ve bitkinin rosmarinik asidinin antimikrobiyal aktivitelerinin olduğu tespit edilip bu çalışma ile de tekrar doğrulanmıştır (Abdellatif ve ark., 2014).

2.2.3.1.2. Oğulotunun antioksidan etkisi

Antioksidanların, oksidatif hasarın neden olduğu hastalıklara karşı korunmada önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı miktarda üretimi, bazen hücrel antioksidan savunmaların da üstesinden gelebilmekte ve oksidatif stres olarak adlandırılan kötü bir duruma yol açabilmektedir. Özellikle oksidatif stresin; DNA mutasyonu, protein oksidasyonu ve/veya lipid peroksidasyonu yoluyla çeşitli dejeneratif hastalıkların oluşmasında ve ilerlemesinde rol oynadığı bilinmektedir. Literatür verileri; diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, Parkinson ve Alzheimer hastalıkları gibi kronik nörodejeneratif bozukluklarda ROS ve oksidatif stresin rolüne özellikle dikkat çekmektedir. *M. officinalis* L'nin uçucu yağlarının antioksidan aktivite için iyi bir potansiyele sahip olduğu ve lipid içeren gıdalarda da kullanılabileceği ispat edilmiştir. Çünkü bu bitki, özellikle fenolik bileşikler grubundan zengin bir antioksidan kaynağıdır (Capecka ve ark., 2005). Bitkinin doğal antioksidan aktivitesi ise sentetik antioksidanlarla (BHA ve BHT) karşılaştırılabilir ve antioksidan aktivitesi de daha çok, bitkide bulunan sitronelal ve nöral gibi fenolik bileşenlerle ilgilidir (Meftahizade ve ark., 2010).

Yapılan bir başka çalışmada, *Lamiaceae* familyasının (dittanyum, melissa, nane, adaçayı, sideritis ve tatlı mercanköşk) 6 farklı bitkisinin sulu ekstreleri antioksidatif özellikleri bakımından incelenmiştir. Ekstraktların, sulu bir çay ekstraktına kıyasla lipid oksidasyonuna karşı gösterdikleri etkiler incelenmiştir. Melissa özünün; hidroksisinnamik asitler, flavonoidler, benzoik, gallik, rosmarinik ve kafeik asitler gibi fenolik bileşiklerin bağlı formları açısından çok daha zengin olduğu tespit edilmiştir (Triantaphyllou ve ark., 2001). Farklı diğer bir çalışmada ise, *M. officinalis* L. ekstresinden farklı fraksiyonların antioksidan aktivitesi değerlendirilmiştir. Etil asetat fraksiyonu, diğer test edilen fraksiyonlarla

karşılaştırıldığında, en yüksek flavonoid içeriğine sahip olmasının yanı sıra en yüksek antioksidan kapasitesine de sahip fraksiyon olarak belirlenmiştir (Pereira, 2014).

Başka bir çalışmada, *M. officinalis* L'nin sulu özleri, doza bağımlı bir şekilde DPPH, hidroksil ve lipid peroksil radikallerinin oluşumunu önlemiştir. Maksimum DPPH ve hidroksil radikal süpürücü aktiviteleri, sırasıyla 0,4 mg/ml ve 0,5 mg/ml konsantrasyonlarında n-butanol ekstresi varlığında gözlenmiştir. En yüksek lipid peroksil tutucu aktivite (% 93.20 oranında) ise, lipid peroksidasyon sisteminde daha yüksek konsantrasyondaki (5 mg/ml) n-butanol ekstraktında gözlenmiştir. *M. officinalis* L'nin ekstraktlarının yüksek fenolik içeriği ve radikal süpürücü aktiviteleri bu çalışma ile bir kez daha kanıtlanmış olmaktadır (Canadanovic-Brunet ve ark., 2008). Yine başka bir hayvan çalışmasında, *M. officinalis* L'nin sulu ekstresinin, fare beynindeki Mn ile indüklenen oksidatif stresi hafifletmedeki etkinliğini doğrulayan güçlü antioksidatif ve nöro-koruyucu özellikleri tespit edilmiştir (Barros, 2013). Fareler üzerinde yapılan bir başka hayvan çalışmasında, *M. officinalis* L ve Brezilya'da kullanılan 2 bitkinin nörolojik bozuklukları tedavi etmek için antioksidan kapasiteleri araştırılmıştır. Bitki ekstraktlarında yaygın olarak bulunan fenolik bileşiklerin (quercetin, gallic asit, quercitrin ve rutin) antioksidan etkinliği de karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. *M. officinalis* L sulu ekstresinin, test edilen tüm pro-oksidanlar tarafından tetiklenen TBARS üretimi üzerinde en yüksek azaltmayı sağlayıp, en iyi antioksidan etki gösterdiği; ancak antioksidan potansiyellerinin ise sulu, metanolik ve etanolik ekstraktlar için benzer olduğu ispatlanmıştır. Melissadan saflaştırılmış bileşikler arasında ise, en yüksek antioksidan aktiviteye kersetin, ardından gallik asit, quercitrin ve rutin sahip olmaktadır. Bu da *M. officinalis*'in farelerde oksidatif stresle ilişkili çeşitli nörolojik hastalıkların tedavisinde etkili bir ajan olarak kullanılabileceğini kanıtlamıştır (Pereira, 2009).

Klinik bir çalışmada, *M. officinalis* L infüzyonunun radyoloji personelleri üzerinde oksidatif stres durumunun iyileştirilmesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Melissa infüzyonunun radyasyondan korunmak için bir besin takviyesi olarak kullanıldığında, radyoloji personellerinde oksidatif stres durumunu azalttığı ve DNA hasarını önemli ölçüde iyileştirdiği sonucuna varılmıştır (Zeraatpishe ve ark., 2011). Bu çalışmalar, ek olarak benzer fenolik maddeler içeren bileşiklerin, antioksidan aktivitelerinin aynı olmadığına ve her bir bileşiğin antioksidan davranışı için ayrı ayrı test edilmesi gerektiğine de işaret etmektedir. Bitkide, antioksidan aktivite ile toplam fenolik madde içeriği arasında da pozitif-anlamlı bir ilişki bulunmuş olup, bu fenolik bileşiklerin dominant antioksidan bileşenlere sahip olduğu sonucu da ortaya konmuştur. *M. officinalis* L'nin uçucu yağlarının antioksidan aktivite için iyi bir potansiyele sahip olduğuna ve lipid içeren gıdalarda da kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Özellikle, sitronelal ve nera gibi fenolik bileşikler grubu antioksidanlardan zengin bir kaynaktır (Capecka ve ark., 2005). Bitki özünde yüksek antioksidan kapasitesi olan; uçucu organik bileşenler, terpenoidler, flavonoidler, kuersetin, rutin, quercitrin, gallik asit gibi aktif bileşenleri nedeniyle de Melissa, çeşitli hastalıklardan korunmada önemli bir rol oynamaktadır. *M. officinalis*'in esansiyel yağı hem yüksek asetil kolinesteraz inhibitör kapasitesi hem de antioksidan aktivite göstermektedir. Ayrıca, *M. officinalis* sadece polar fraksiyonlarda kayda değer bir antioksidan aktivite göstermiştir. Melissa bitkisinin en zengin bileşimi ise Rosmarinik asittir (Ferreira ve ark., 2006). Oğulotunda bulunan; flavonoidler, rosmarinik asit ve benzodioksol gibi bileşiklerin antioksidan etkileri, B ve C vitaminlerinin etkilerinden 10 kat daha güçlü bulunmuştur (Sofowora ve ark., 2013). Ayrıca, *M. officinalis*'in ömrü uzatabildiği ve belleği geri yüklemekteki önemli özelliği de kaynaklarda not edilmiştir (Sun ve ark., 2013).

Ayrıca, bugüne kadar sağlıklı yetişkinlerde önerilen dozlarda (30 güne kadar) topikal veya oral olarak kullanıldığında ve gıdalarda bulunan miktarlarında tüketildiğinde bitki için şimdiye kadar hiçbir yan etki de bildirilmemiştir. Amerika Birleşik Devletleri'nde genelde Güvenli (GRAS) statüsü olarak değerlendirildiğinde, fırınlanmış ürünlerde maksimum kullanım seviyesi oranı da % 0,5 olarak belirlenmiştir (Rafieian-Kopaie ve ark., 2013). Hamilelik veya emziliklik döneminde, pediatrik hastalarda, tiroid rahatsızlığı olan hastalarda yatıştırıcılarla birlikte kullanıldığında ise güvensiz olduğu rapor edilmiştir (Ulbricht ve ark., 2004).

Mevcut klinik çalışmalar, 600 mg *M. officinalis* ekstresinin günlük oral dozunun; anksiyete, duygu durum ve biliş problemlerinin tedavisinde, güvenli ve etkili olduğunu göstermektedir. Ayrıca, %1'lik *M. officinalis* ekstresi içeren formülasyonların topikal uygulaması da, HSV enfeksiyonlarının çok erken aşamalarının tedavisinde etkili olmaktadır (Shakeri ve ark., 2016).

Bu bitkiyi kullanarak yeni antikanser ilaçların geliştirilmesi, kanser üzerinde daha fazla çalışmanın yapılabilmesi, kronik hastalıkların önlenmesi ve yaşam süresini uzatma çalışmalarının yapılabilmesi için daha fazla klinik ve deneysel veriye ihtiyaç vardır. *M. officinalis*'in tıbbi özellikleriyle ilgili çok sayıda bilimsel kanıt olmasına rağmen, bu bitkinin uygulamalarını anlamamızda hala bazı boşluklar bulunmaktadır. İlk boşluk ise, *M. officinalis*'in bazı *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda farmakolojik etkilerinin tespitinin, klinik uygulamalar için yüksek olabilen bazı bitki ekstraktı dozları ile elde edilmiş olmasıdır. Hayvan dozlarının insanlara çevrilmesindeki yaygın bir hata da, hayvanların vücut ağırlığına göre (kilogram başına miligram) basit bir şekilde uygulanıp, hayvan dozunun basit bir

dönüşümünü içeren izometrik ölçeklemenin doğru kullanılmaması olduğunu da belirtmek gerekir. Bu da, insan dozunun toksisitesinin tahmin edilmesini zorlaştırabilmektedir. Vücut ağırlığı yerine vücut yüzey alanı içeren allometrik ölçeklendirme, daha büyük hayvanların normal olarak daha yavaş bir metabolik hıza sahip olması ve dolayısıyla da daha küçük bir ilaç dozu gerektirebilmesi nedeniyle bazen daha uygun olmaktadır. Dozlara sahip herhangi bir tıbbi uygulama da, daha dikkatli güvenlik çalışmaları ile gerçekleştirilmelidir (Wojkikowski ve Gobe, 2014; Shakeri ve ark., 2016).

Gelecekteki araştırmalar ise, antioksidanların bileşiminin yanı sıra toplam antioksidan kapasitesi ile içerik arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalara odaklanmalıdır. Fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesini incelemek için daha ileri çalışmalar gerekmektedir. Bu tür çalışmalar, ROS süpürücü ve metal bağlayıcı antioksidan mekanizmaların oksidatif korumayı nasıl sağladığının ve ayrıca hastalığın tedavisi ve önlenmesi için geliştirilmiş antioksidan tasarımını nasıl kolaylaştırdığının daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır. Kanseri önlemek, tedavi etmek ve olası mekanizmaları daha iyi açıklayabilmek için fenolik bileşikler ile antioksidan-antikanser aktivite arasındaki ilişki daha kapsamlı bir şekilde, derinlemesine araştırılmalıdır. Bu nedenle, bu yapılacak çalışmalar, uygun çeşitli hayvan modellerine ve gerçekçi dozaja bağlı olarak, *M. officinalis*'in özütlerinin ve aktif bileşiklerinin etki mekanizmalarını ve farmakokinetiğini araştırmaya daha fazla odaklanmalıdır. Ayrıca, bitki ekstraktlarının ve aktif bileşiklerin; depresyon, kanser, bakteriyel enfeksiyonlar, epilepsi tedavisi gibi *M. officinalis*'in bilinen diğer geleneksel kullanımlarının dışında klinik etkinliği de araştırılmalı ve doz güvenlikleri de göz önünde bulundurulmalıdır (Wojkikowski ve Gobe, 2014; Shakeri ve ark., 2016).

2.2.3.1.3. Oğulotunun antitümör etkisi

Bitkilerin uçucu yağlarının *in-vitro* sitotoksik aktivitesi ve *in-vivo* tümörisidal aktivitesi; zaten bilinen önceki çalışmalarla da kanıtlanmıştır. Melissa çayının antioksidan aktivitesi ise hidroalkolik ekstraktlarla test edilmiştir. Bu aktivitenin *M. officinalis*'in kendi esansiyel yağında bulunduğu gösterilmiştir. Panax ginseng, glikolik asit, resveratrol, *Prunus persica* çiçeklerinin ve Melissa uçucu yağının etanolik ekstreleriyle ise çeşitli antioksidanların antitümör özellikleri tarif edilmiştir (De Sousa ve ark., 2004).

M. officinalis'in uçucu yağının yine; insanlarda bulunan kolon (Caco-2), lösemi (HL-60, K562), akciğer (A549), meme (MCF-7) hücrelerine ve fare melanoma (B16F10) hücresine karşı antitümör etki göstermiş olması nedeniyle de, antitümör bir bitki olarak kullanılabileceği düşünülmektedir (Ersoy, 2009). Bu faaliyetlerden hangi yağ bileşenlerinin sorumlu olduğunu belirlemek için ise, yine daha fazla bilimsel deneysel çalışmanın yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır (De Sousa ve ark., 2004).

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmamızda, N2 yabani tip *C. elegans* 'lar kullanılmış olup Minnesota Üniversitesi'ne bağlı *Caenorhabditis* Genetik Merkezi'nden (CGC) temin edilmiştir. Geri kalan tüm laboratuvar malzemeleri ise; (İstanbul) İstinye Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden, kullanılan bitki (avokado ve oğulotu) ekstraktları de Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı'ndan (Prof. Dr. Ayşegül Köroğlu Güvenç'ten) temin edilmiştir.

3.1.1. Kullanılan Laboratuvar Malzemeleri ve Cihazlar

Otoklav (Nüve- OT 40L), etüv (Nüve- EN 120), hassas terazi (Kern- PFB120-3), parafilm, santrifüj cihazı (Hitachi- CF15RN), otomatik pipetler (Isolab- Capp), otomatik pipet uçları, steril petri kapları (60 mm*15 mm), mikroskop (Zeiss- Stemi 508), Ph metre (Hanna- HI2211), spektrofotometre (Genesys- 10S-VIS), vorteks (Scilogex- MXS), 42ezür, erlen, distile su cihazı (Nüve- ND 12), buzdolabı (Uğur- USS 374 DTKE), inkübatör (Nüve- EC 160), laminar akış kabini (Nüve-MN 120), 15 ml ve 50 ml'lik falcon tüpleri.

3.1.2. Kullanılan Kimyasallar

Bacteriological Grade Agar (Multicell), Bacteriological Peptone (Multicell), NaCl (Carlo Erba), MgSO₄ (Sigma-Aldrich), KH₂PO₄/K₂HPO₄ tamponları (Sigma), CaCl₂ (Merck), MgSO₄ (Merck), Kolesterol (Sigma-Aldrich), LB Broth (Sigma), LB Agar (Sigma), Fluorodeoxyuridine (Sigma-Aldrich), Metanol (Merck).

3.2. Deney Yöntemi

3.2.1. NGM (Nematode Growth Medium) Hazırlanması ve Avokado Bitki Ekstresinin NGM'lere Eklenmesi

Nematode Growth Medium (NGM), *C.elegans*'ların yaşam ortamıdır. NGM hazırlanışında kullanılan malzemeler ise; 3,4 gr Bacteriological Agar, 0,5 gr Bacto-peptone, 0,06 gr NaCl 200 ml distile su içerisinde eritilmiş olup, 125°C'de 15 dk otoklavlandıktan sonra 55°C'ye kadar soğutulur. Daha sonra hazırlanan bu karışım otoklavdan alındıktan sonra musluk altında biraz soğutulur ve üzerine 200 µl Kolesterol (5 mg/ml), 200 µl MgSO₄ (1M), 200 µl CaCl₂ (1M) ve 5 ml KPO₄ tamponu (Ph:7) eklenerek homojen bir karışım oluşturulur. Ardından, 150 µg/ml (1.kons.) ve 75 µg/ml (2.kons.) son konsantrasyonlarında avokado bitki ekstreli besin plaklarının hazırlanması için avokado ekstresi metanolde çözündürülüp, erlende 200 ml hazırlanan çözeltiye eklenir. Kontrol grubu için hazırlanan NGM'lere bitki ekstresi ilave edilmemiş olup NGM'lerin içerisine sadece metanol çözeltisi eklenmiştir. NGM'ler her bir konsantrasyon için hazırlanan 60 mm'lik 30'ar adet petriye, 10 ml kadar aktarılıp polimerleşmeye bırakılmıştır.

3.2.2. NGM (Nematode Growth Medium) Hazırlanması ve Oğulotu Bitki Ekstresinin NGM'lere Eklenmesi

NGM hazırlanışında kullanılan malzemeler; 8,5 gr Bacteriological Agar, 1,25 gr Bacto-peptone, 0,15 gr NaCl 500 ml distile su içerisinde eritilmiş olup, 125°C'de 15 dk otoklavlandıktan sonra 55°C'ye kadar soğutulur. Daha sonra hazırlanan bu karışım otoklavdan alındıktan sonra musluk altında biraz soğutulur ve üzerine 500 µl Kolesterol (5mg/ml), 500 µl MgSO₄ (1M), 500 µl CaCl₂ (1M) ve 5 ml KPO₄ tamponu (Ph:7) eklenerek homojen bir karışım oluşturulur. Ardından, 200 µg/ml (1.kons.), 50 µg/ml (2.kons.) ve 5 µg/ml (3.kons.) son konsantrasyonlarında oğulotu bitki ekstreli besin plaklarının hazırlanması için oğulotu ekstresi metanolde çözündürülüp, erlende 500 ml hazırlanan çözeltiye eklenir. Kontrol grubu için hazırlanan NGM'lere bitki ekstresi ilave edilmemiş olup NGM'lerin içerisine sadece metanol çözeltisi eklenmiştir. NGM'ler her bir konsantrasyon için hazırlanan 60 mm'lik 50'şer adet petriye, 10 ml kadar aktarılıp polimerleşmeye bırakılmıştır.

3.2.3. *E.coli* OP50 Suşunun Hazırlanması

LB agarda ekimi yapıp büyütülen *E.coli* OP50 suşundan, steril laminar akış kabini içinde tek koloni düşürme yöntemine göre, sterilleştirilmiş özeyle tek koloni alınıp 15 ml'lik falcon

tüplerinde bulunan 10 ml'lik LB broth'lara bakteri ekimi yapılır. LB broth'lara ekimi yapılan *E.coli* OP50 bakterisi, 37°C'de inkübatörde gece boyunca bekletilir ve çoğalması sağlanır. Spektrofotometrede de absorbans ölçümü yapılır (OD:595, > 0.5).

Daha sonra çoğaltılan bu *E.coli*'ler, deney çalışmaları için 65°C'lik etüvde 15 dk civarı inkübe edilip öldürülmüştür.

3.2.4. Avokado Bitki Ekstreli NGM'lere *E.coli* Ekimi

C.elegans çalışmalarında *Escherichia coli* bakterisinin OP50 suşu kullanılmaktadır. OP50 suşu, bir Urasil oksotrofu olmakla beraber, *C.elegans*'ın NGM üzerinde büyümesini de kısıtlamaktadır. Bu da *C.elegans*'ın mikroskop altında gözlemlenmesinde ve idame ettirilmesinde büyük bir avantaj sağlamaktadır. OP50 suşu patojen olmamakla birlikte havaya da karışmamaktadır. N2 yabani tip *C.elegans*'lar, bu besiyerlere eklenen *E. coli* bakterisinin OP50 suşu ile beslenmektedir. Mevcut çalışmada da, hazırlanmış olan *E. coli* bakterisinin OP50 suşu, yine önceden hazırlanan avokado bitki ekstreli NGM'lere eklenerek, laminar akış kabininde kurutulmuştur.

Tablo 5: Deney Gruplarının Final Konsantrasyonları İçin, NGM'lere Eklenen *E.coli* ve Avokado Bitki Ekstresi Miktarları

Gruplar	Final Konsantrasyonlar (NGM)	E.coli+Ekstre Miktarı (30'ar petri için)
Grup 3	150 µg/ml	9 ml <i>E.coli</i> + 90 µl ekstre
Grup 2	75 µg/ml	9 ml <i>E.coli</i> + 45 µl ekstre + 45 µl metanol
Kontrol grubu (Grup 1)	Ekstresiz (0 µg/ml)	9 ml <i>E.Coli</i> + 90µl metanol

3.2.5. Oğulotu Bitki Ekstreli NGM'lere *E.coli* Ekimi

Mevcut çalışmada da, hazırlanmış olan *E. coli* bakterisinin OP50 suşu, önceden hazırlanan oğulotu (melissa) bitki ekstreli NGM'lere eklenerek, laminar akış kabiniinde kurutulmuştur.

Tablo 6: Deney Gruplarının Final Konsantrasyonları İçin, NGM'lere Eklenen *E.coli* ve Oğulotu Bitki Ekstresi Miktarları

Gruplar	Final Konsantrasyonlar (NGM)	<i>E.coli</i> +Ekstre Miktarı (50'şer petri için)
Grup 4	200 µg/ml	15 ml <i>E.Coli</i> + 150 µl ekstre
Grup 3	50 µg/ml	15 ml <i>E.coli</i> + 30 µl ekstre + 120 µl metanol
Grup 2	5 µg/ml	15 ml <i>E.coli</i> + 3 µl ekstre + 147 µl metanol
Kontrol grubu (Grup 1)	Ekstresiz (0 µg/ml)	15 ml <i>E.coli</i> + 150µl metanol

3.2.6. FudR (fluorodeoxyuridine) Maddesinin İlavesi

NGM (besiyeri) hazırlık aşamasında *E.coli* ekilip kurutulduktan sonra, yetişkin aşamadaki *C.elegans*'ların yumurta gelişimini engellemek ve nesillerin birbirleriyle karışmasını önlemek amacıyla, 60 mm'lik her bir petriye, DNA sentezi inhibitörü ve bir pirimidin analogu olan 5-Fluoro-2'-deoxyuridine (FudR) maddesi 200 µl olarak ilave edilmiştir.

3.2.7. Senkronizasyon (Dekontaminasyon) Aşaması

C.elegans embriyoları, çeşitli protokollere uygun olarak izole edilirler. Böylece kurtçukların aynı evrede büyümeleri yani senkronizasyonları gerçekleşmiş olur. Senkronizasyon aşamasında ise;

- İzolasyonu yapılacak olan petri 3,5 ml steril su ile yıkanır. Petri hafif eğik tutularak kurtçukların aşağı doğru kaymaları sağlanır ve pipetaj yapılır.
- Falcon tüpünde (konikal tüpte) tüm yıkama sıvısı toplanır.
- Falcon tüp hacmi 3,5 ml'ye steril su ile tamamlanır.
- Ayrıca, ayrı bir falcon tüpünde de 0,5 ml 5N NaOH ve 1 ml çamaşır suyu konulup karıştırılır. Ardından bu karışım, 3,5 ml'lik yıkama sıvısının üzerine eklenir.
- Tüp birkaç dakika vortex ile çalkalanır. Bu işlem her 2 dakikada 1 kez olacak şekilde 10 dakika boyunca tekrarlanır ve bu esnada falcon tüpü dakikada 1 kez alt üst edilerek de karıştırılır.
- Vortex işleminden sonra homojen olarak karışan bu sıvı, 1300 xg'de 30 saniye boyunca santrifüj edilir.
- Falcon tüpünün dibinde 0,1 ml kalacak şekilde pelletin üst kısmı (süpernatant) atılır.
- Kalan pelletli sıvı 5 ml'ye steril su ile tamamlanır ve birkaç saniye vortexlenir.
- Ardından tekrar 30 saniye boyunca 1300 xg'de santrifüj edilip, tüpün dibinde 0,1 ml kalacak şekilde pelletin üst kısmı (süpernatant) atılır.
- Pastör pipeti yardımıyla dipte kalan 0,1 ml'lik tüm yumurtalar ise, hazırlanan NGM'lere (besiyerine) aktarılır ve en son, mikroskopta gözlemlenir.
- Canlılar, yetişkin evresine geldikten sonra deney çalışmalarında kullanılır.

3.2.8. Termotolerans (Isı Stresi) Deneyi ve Deneyin Genel Takibi

3.2.8.1. FudR'siz termotolerans deneyi

FudR maddesi ilave edilmemiş ve *E. Coli* ekilmiş olan ekstresiz 6 adet petrinin her birine 40'ar adet senkronize edilmiş hayvan (*C.elegans*) aktarıldı. Tüm petriler 35°C'ye ayarlanmış olan inkübatöre bırakıldı. Ardından, her 2 saatte bir inkübatörden çıkarılan petrilere ölen hayvanlar not edilerek, tamamı ölene kadar bu sayım işlemine devam edildi.

Deney toplamda 16 saat sürmüş olup, ölü ve canlı hayvan sayılarına 6, 8, 10, 12, 14 ve 16.saatlerde bakılarak not edildi. Yapılan bu termotolerans deneyi sonucunda ise, 12.saatte inkübatörden çıkarılan hayvanların %50'sinin canlı, %50'sinin de ölü olduğu tespit edilmiştir. Deney sonucunda tespit edilen saate göre (12.saat) de; FudR maddesi ilave edilmiş, ve ekstresiz termotolerans deneyi gerçekleştirilmiştir. Deneyde petriden kaçan hayvanlar çalışma dışı bırakılmıştır (Şekil 10).

3.2.8.2. Ekstresiz termotolerans deneyi

FudR maddesi ilave edilmiş ve *E. Coli* ekilmiş olan ekstresiz 5 adet petrinin her birine 40'ar adet senkronize edilmiş hayvan (*C.elegans*) aktarıldı. Tüm petriler 35°C'ye ayarlanmış olan inkübatöre bırakıldı. Ardından, her 2 saatte bir inkübatörden çıkarılan petrilerde ölen hayvanlar not edilerek, tamamı ölene kadar bu sayım işlemine devam edildi. Deney toplamda 10 saat sürmüş olup, ölü ve canlı hayvan sayılarına 2, 4, 6, 8 ve 10.saatlerde bakılarak not edildi. Yapılan bu termotolerans deneyi sonucunda ise, 6.saatte inkübatörden çıkarılan hayvanların %50'sinin canlı, %50'sinin de ölü olduğu tespit edilmiştir. Deney sonucunda tespit edilen saate göre (6.saat) de, bitki ekstreli termotolerans deneyleri gerçekleştirilmiştir. Deneyde ise petriden kaçan hayvan olmamıştır (Şekil 11).

3.2.8.3. Avokado bitki ekstreli termotolerans deneyi

Avokado bitki ekstreli termotolerans deneyinde; 75 µg/ml, 150 µg/ml konsantrasyonlarında ve kontrol grubu (ekstresiz) da olmak üzere 3 ayrı grup üzerinden 9 petri ile çalışma gerçekleştirilmiştir. Deneyin 0.saatinde avokado ekstreli ve ekstresiz her bir petriye 40'ar adet *C.elegans* aktararak, *C.elegans*'lar ekstreli petrilerde bir gün boyunca 25°C'de ekstreya maruz bırakılmıştır. Ertesi gün, ekstreli ve ekstresiz petri kaplarında bulunan *C.elegans*'lar 35°C'ye ayarlı inkübatörde 6 saat boyunca bekletilip, sonrasında inkübatörden çıkarılmıştır. Canlı ve ölü sayısı da not edilerek bitki ekstreli termotolerans deneyi tamamlanmıştır. Deneyde petriden kaçan hayvan olmamıştır (Şekil 12).

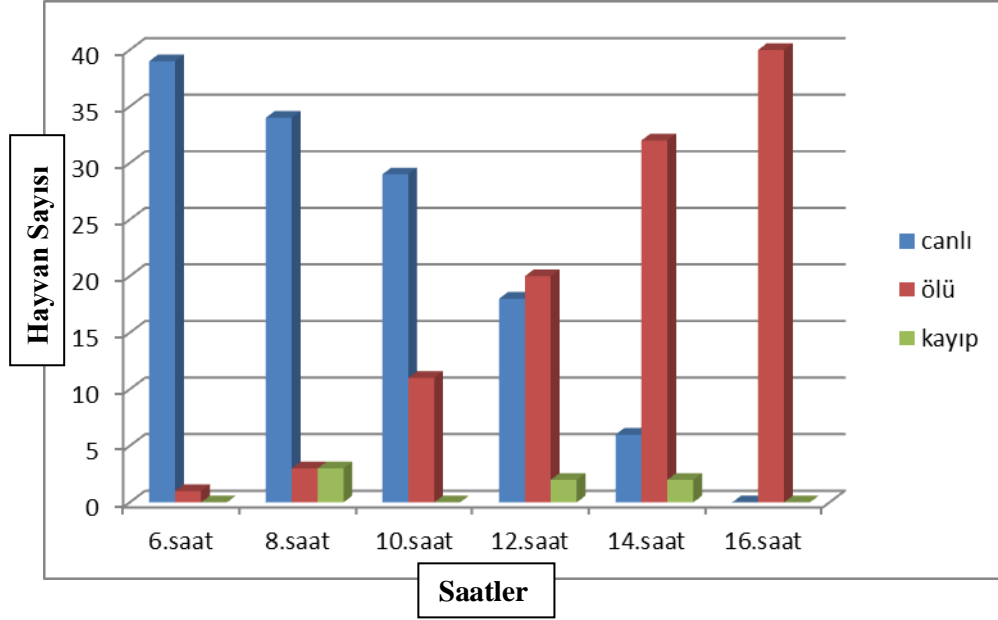
3.2.8.4. Oğulotu bitki ekstreli termotolerans deneyi

Oğulotu bitki ekstreli termotolerans deneyinde; 200 µg/ml, 50 µg/ml, 5 µg/ml konsantrasyonlarında ve kontrol grubu (ekstresiz) olmak üzere 4 ayrı grup üzerinden 12 petri ile çalışma gerçekleştirilmiştir. Deneyin 0.saatinde oğulotu ekstreli ve ekstresiz her bir petriye 40'ar adet *C.elegans* aktararak, *C.elegans*'lar ekstreli petrilere bir gün boyunca 25°C'de ekstreye maruz bırakılmıştır. Ertesi gün, ekstreli ve ekstresiz petri kaplarında bulunan *C.elegans*'lar 35°C'ye ayarlı inkübatörde 6 saat boyunca bekletilip, sonrasında inkübatörden çıkarılmıştır. Canlı ve ölü sayısı da not edilerek bitki ekstreli termotolerans deneyi tamamlanmıştır. Deneyde petriden kaçan hayvanlar çalışma dışı bırakılmıştır (Şekil 13).

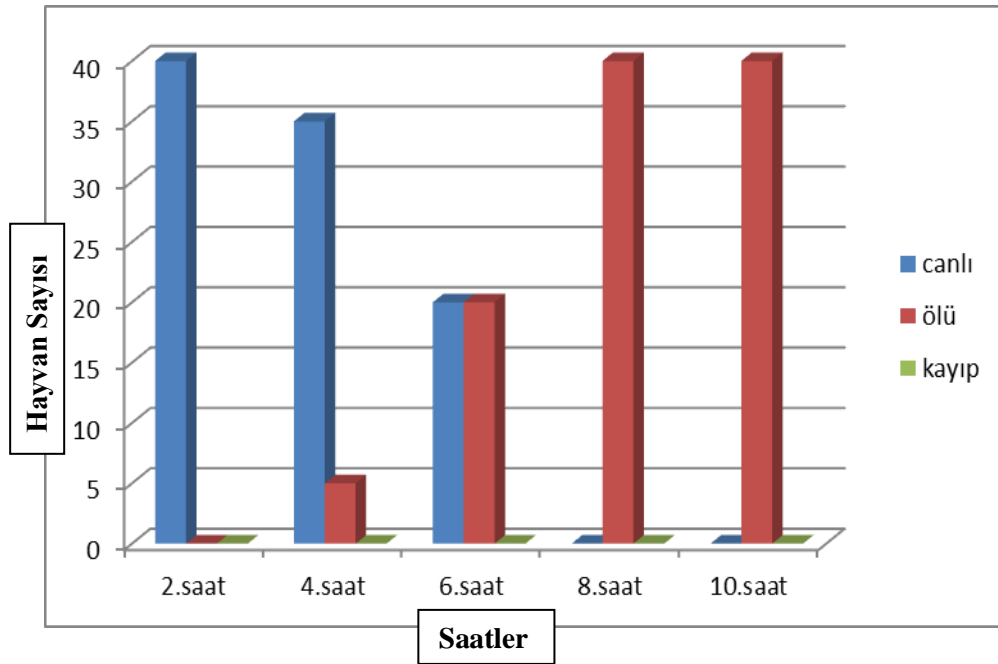
3.3. İstatistiksel Analizler

Deney sonuçlarından elde edilen verilerde, kontrol ve deney gruplarına ait sonuçlar fark testleri (t-Testi ve ANOVA) ile karşılaştırılmış olup, $p<0,05$ değeri de istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Verilerin istatistiksel analizlerinde, IBM SPSS Statistic programı 16.0 sürümü kullanılmıştır. İlgili grafikler ise, Microsoft Office Excel 2010 programında çizilmiştir.

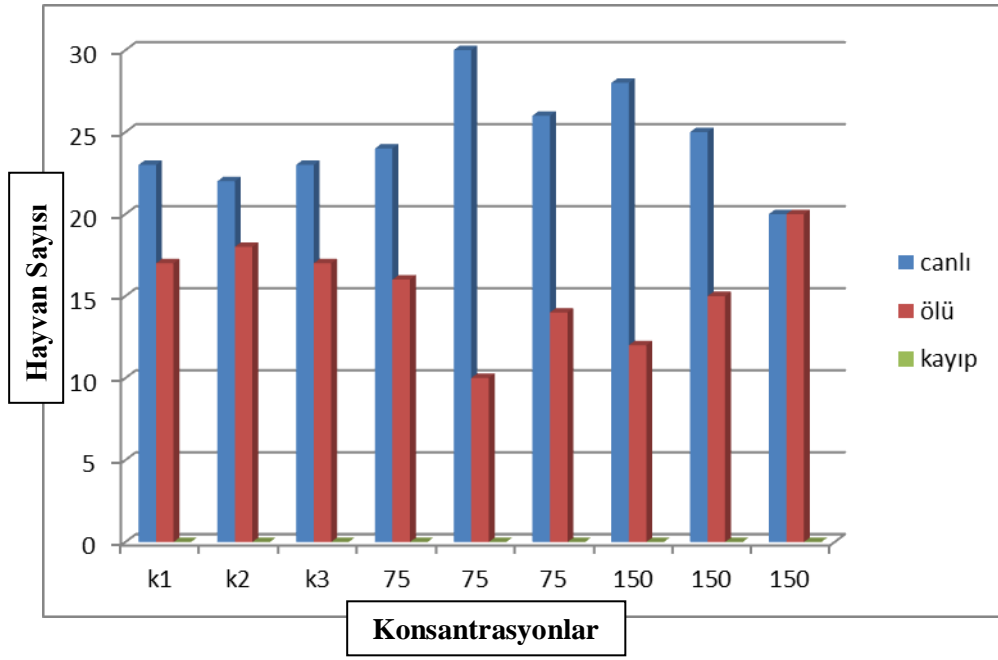
4. BULGULAR



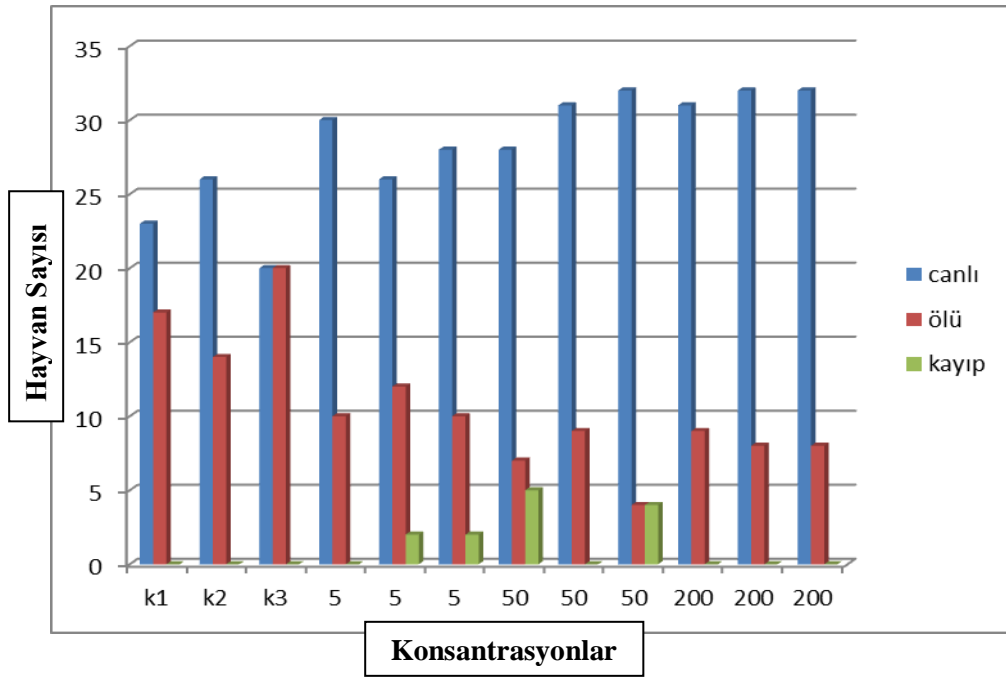
Şekil 10: FuDR'siz Termotolerans Deney Sonuç Grafiği



Şekil 11: Ekstresiz Termotolerans Deney Sonuç Grafiği



Şekil 12: Avokado Bitki Ekstreli Termotolerans Deney Sonuç Grafiği



Şekil 13: Oğulotu Bitki Ekstreli Termotolerans Deney Sonuç Grafiği

4.1. Oğulotu Termotolerans Deneyi Spss Analiz Yorumları

Oğulotu bitkisinden elde edilen ekstraktların *C. elegans* termotoleransı üzerindeki etkilerini belirlemeye yönelik yapılan araştırmanın ham verileri aşağıdaki gibidir (Tablo7).

Tablo 7: Oğulotu Ekstrelerinin *C.elegans* Termotoleransı Üzerindeki Etkisine Yönelik Araştırmadan Elde Edilen Ham Veriler

	DENEY GRUBU	CANLI	ÖLÜ	KAYIP
1	Kontrol 1	23	17	0
2	Kontrol 2	26	14	0
3	Kontrol 3	20	20	0
4	5 µg/ml	30	10	0
5	5 µg/ml	26	12	2
6	5 µg/ml	28	10	2
7	50 µg/ml	28	7	5
8	50 µg/ml	31	9	0
9	50 µg/ml	32	4	4
10	200 µg/ml	31	9	0
11	200 µg/ml	32	8	0
12	200 µg/ml	32	8	0

Elde edilen verilerin istatistiksel analizlerinde, sadece ‘canlı organizma’ sayıları dikkate alınmış olup, ölü ve kayıp sayıları analize dahil edilmemiştir. Analizler, SPSS 16.0 programında (One-Way ANOVA ve t-Testi ile) yapılmıştır.

Farklı konsantrasyonlardaki oğulotu ekstrelerinin, *C. elegans* termotoleransına etkisini belirlemek için, *C. elegans* yaşam süresi ortalamaları arasındaki fark tespit edilerek varyans analizi yapılmıştır. Diğer bir ifadeyle; deney gruplarındaki hayatta kalan *C. elegans* ortalamaları karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada uygulanan oğulotu ekstrelerinin konsantrasyonları ile *C.elegans* organizmalarının hayatta kalma sayıları (termotolerans yetenekleri) birbirinden bağımsızdır. Burada termotolerans ortalamalarını karşılaştırmada, ilk olarak elde edilen verilerin dağılımının normal olup olmadığını göstermek gerekmektedir (Tablo 8).

Bunun için de SPSS 16.0 programında ‘Normalite testi’ uygulanmıştır. Bu amaçla 1: Oğulotu-Kontrol, 2: Oğulotu-5, 3: Oğulotu-50, 4: Oğulotu-200 deney gruplarının her biri için de, ayrı ayrı H0 ve H1 hipotezleri kurulmuştur.

H0: %95 güvenle veriler normal dağılımlıdır.

H1: %95 güvenle veriler normal dağılımlı değildir.

Görüldüğü gibi, Normalite analizinde iki farklı test sonucu elde edilmektedir. Bunlardan birincisi ‘Kolmogorov-Smirnov’, diğeri ise ‘Shapiro-Wilk’ testidir (Tablo8). ‘Shapiro-Wilk’ testi genel olarak daha çok tercih edilen bir testtir ve bu analizde de ‘Shapiro-Wilk’ testi sonuçları dikkate alınmıştır. ‘Shapiro-Wilk’ testinin güvenilirlik (Sig.) değerleri ilk 3 grupta (OğulotuKontrol için 1.000, Oğulotu5 için 1.000 ve Oğulotu50 için 0.463) 0.05’ten büyük olduğu için, bu gruplar için H0 hipotezleri kabul edilmiştir. Yani bu gruplar için “%95 güvenle veriler normal dağılımlıdır.” denilebilir. Burada sadece Oğulotu 200 grubu için Shapiro-Wilk Sig. değeri 0.000 olarak elde edilmiştir.

Tablo 8: Oğulotu Ekstrelerinin *C.elegans* Termotoleransına Etkisini Belirlemede Elde Edilen Verilerin Normalite Testi Sonuçları

Normalite Testleri							
	Grup	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Birim	OğulotuKontrol	0.175	3	.	1.000	3	1.000
	Oğulotu 5	0.175	3	.	1.000	3	1.000
	Oğulotu 50	0.292	3	.	0.923	3	0.463
	Oğulotu 200	0.385	3	.	0.750	3	0.000

a. Lilliefors Significance Correction

Elde ettiğimiz verilerle ilgili ikinci olarak, gruplar arasındaki varyansların homojen olduğunun tespit edilmesi gerekmektedir (Tablo 9). Yapılan varyans homojenite testi için “H0: % 95 güvenle, grup varyansları homojendir.” ve “H1: %95 güvenle, grup varyansları homojen değildir.” hipotezleri kurulmuş ve test edilmiştir. Varyans homojenite testinde elde edilen güven değeri 0.436 olarak tespit edilmiştir. Dolayısıyla 0.05’ten büyük ($p(0.436) > 0.05$) olduğu için (H0 kabul edilerek) grupların varyanslarının homojen olduğu belirlenmiştir.

Tablo 9: Oğulotu Ekstrelerinin *C.elegans* Termotoleransı Üzerine Etkisine Yönelik Test Gruplarının Varyans Homojenitelerine Ait Test Sonuçları

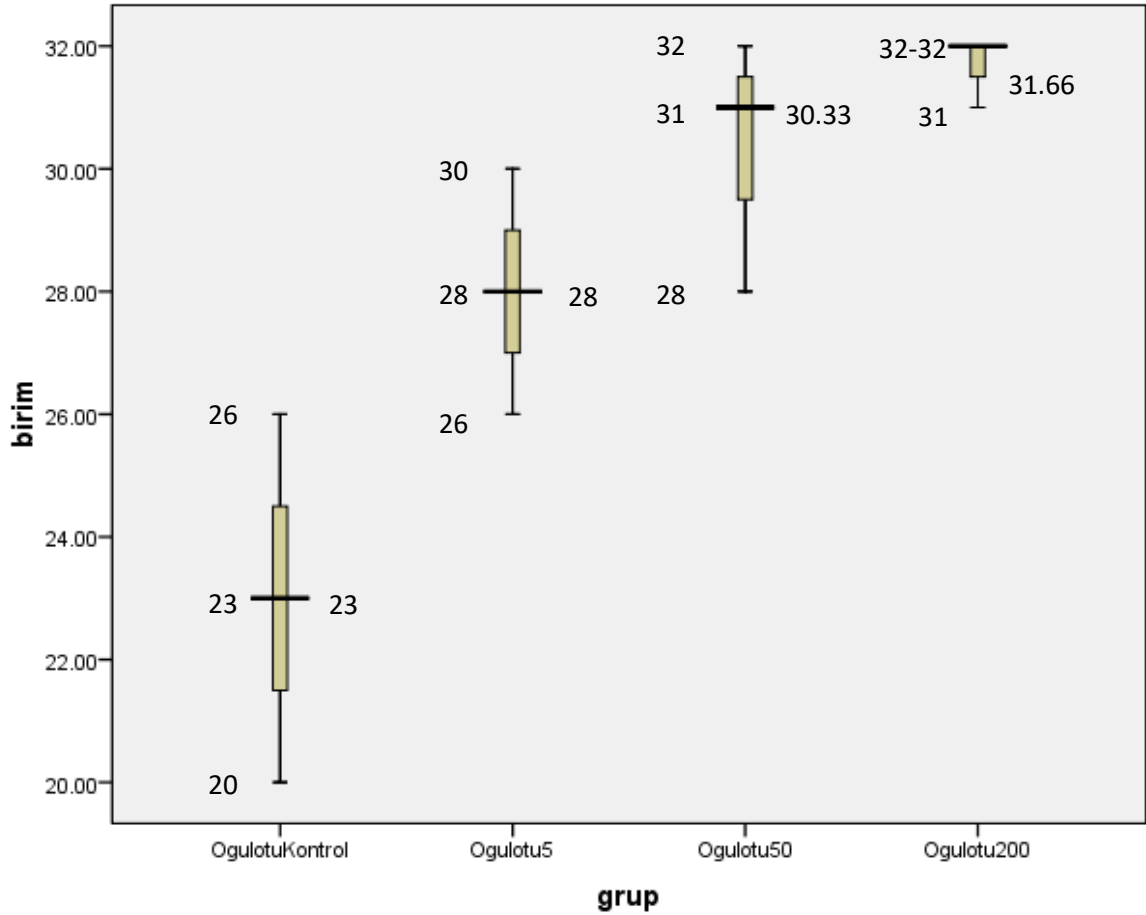
Varyans Homojenite Testi			
birim			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.012	3	8	0.436

Tanımlayıcı verilerde (Descriptives) Grup sayısı (N)=3 tür, yani deneyler 3 paralel olarak yapılmıştır. Ortalamalara bakıldığında kontrol grubundan 5, 50, 200 grubuna doğru 23 ile başlayıp 28, 30.33 ve 31.66 şeklinde artış görülmektedir (Tablo 10, Şekil 13).

Tablo 10: Oğulotu Ekstrelerinin *C.elegans* Termotoleransı Üzerine Etkisi İle İlgili Tanımlayıcı Veriler

Tanımlayıcı Veriler								
Birim	N	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	95% Güvenirlik Güven Aralığı		Minimum	Maksimum
					Alt Sınır	Üst Sınır		
Ogulotu Kontrol	3	23.00000	3.00000	1.73205	15.5476	30.4524	20	26
Ogulotu5	3	28.00000	2.00000	1.15470	23.0317	32.9683	26	30
Ogulotu50	3	30.33330	2.08167	1.20185	25.1622	35.5045	28	32
Ogulotu200	3	31.66670	0.57735	0.33333	30.2324	33.1009	31	32
Total	12	28.25000	3.88763	1.12226	25.7799	30.7201	20	32

*N: Petri Sayısı



Şekil 14: Oğulotu Ekstrelerinin *C.elegans* Termotoleransı Üzerine Etkisini Belirlemeye Yönelik Analiz Sonuçları

(*Yatay çubuklar ve soldaki rakamlar: 6 saatlik muamele sonunda hayatta kalan *C.elegans* bireylerinin sayısını ifade etmektedir. Sağdaki rakamlar: grup ortalamalarını göstermektedir.)

Varyans homojenitesi ve verilerin dağılımıyla ilgili ‘Normalite testi’ sonuçları elde edildikten ve tanımlayıcı veriler değerlendirildikten sonra, oğulotu bitki ekstraktlarının konsantrasyonlarındaki değişim ile *C.elegans* termotolerans potansiyelleri arasındaki ortalamaları karşılaştırmak için tek yönlü varyans analizine geçilmiştir (Tablo 11).

Tek yönlü varyans analizi için ise şu hipotezler kurulmuştur:

H0: %95 güvenle, grupların ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur.

H1: %95 güvenle, grupların ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır.

Tablo 11: Oğulotu ANOVA Testi

ANOVA					
birim	Kareler toplamı	df	Ortalama Karesi	F	Sig.
Gruplar Arası	130.917	3	43.639	9.881	0.005
Grup İçi	35.333	8	4.417		
Total	166.25	11			

Tek yönlü ANOVA testinden elde edilen "Sig." değeri 0.05 güven değerinden küçük olduğu için ($0.005 < 0.05$) tek yönlü varyans analizi için kurduğumuz H_0 hipotezi reddedilmiş, H_1 hipotezi kabul edilmiştir. Yani "%95 güvenle, grupların ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır." sonucuna varılmıştır. Ancak bu sonuç hangi grupların ortalamaları arasında farklılıklar olduğunu belirlemek için yeterli değildir. Bu nedenle hangi gruplar arasında [OğulotuKontrol(grup1), Oğulotu5(grup2), Oğulotu50(grup3) ve Oğulotu200(grup4) arasında] *C.elegans* termotoleransına etki açısından bir farklılık olduğunu görmek için de; 'Tamhane' veya 'Tukey' testlerinden birinin yapılması gerekmektedir. Bu iki testten hangisini kullanacağımızı belirlemek için, "varyans homojenite testi" nden elde ettiğimiz Sig. değeri dikkate alınmaktadır. Burada varyansların homojen olması halinde, yani Sig. değeri 0.05'ten büyük ($p > 0.05$) olduğunda, genellikle 'Tukey' testi tercih edilmektedir. Varyansların homojen olmaması halinde ise, yani Sig. değeri 0.05'ten küçük ($p < 0.05$) olduğunda, genellikle 'Tamhane's T2' testi tercih edilmektedir. Bizim elde ettiğimiz Levene Sig. değeri (Tablo 9'da) 0.436 olduğu için ($p > 0.05$) grupların varyanslarının homojen olduğu kabul edilmiş ve 'Tukey' testi yapılmasına karar verilmiştir.

Tukey testinde her bir grup değerleri ile ayrı ayrı karşılaştırılmış ve OğulotuKontrol grubu ile Oğulotu50 grubu arasında, OğulotuKontrol grubu ile Oğulotu200 grubu arasında ve Oğulotu5 grubu ile Oğulotu200 grubu arasında Sig. değerleri 0.05'ten küçük olarak belirlenmiştir. Diğer bir ifadeyle Tukey testinde her bir grup, diğerleri ile ayrı ayrı ikişerli karşılaştırılmış ve bu karşılaştırılan grupların ortalamaları arasındaki farklar (Mean Difference) sayısal olarak verilmiştir. Bu sayısal değerlerin yanında bir yıldız (*) işaretinin bulunması, bu ikili grubun ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık olduğunu göstermektedir. OğulotuKontrol grubu ile Oğulotu50 grubu arasında Sig. değeri 0.0116, OğulotuKontrol grubu ile Oğulotu200 grubu arasında Sig. değeri 0.0043 ve Oğulotu5 grubu

ile Oğulotu200 grubu arasında Sig. değeri 0.0207 olarak belirlenmiştir [$p(0.0116)<0.05$, $p(0.0043)<0.05$, $p(0.0207)<0.05$]. Diğer bir ifade ile 0.05'ten küçük olarak Sig. değeri OğulotuKontrol grubu ile Oğulotu50 grubu arasında, OğulotuKontrol grubu ile Oğulotu200 grubu arasında ve Oğulotu5 grubu ile Oğulotu200 grubu arasında belirlenmiş, diğer gruplar arasında ise Sig. değerlerinin 0.05'ten büyük ($p>0.05$) olduğu tespit edilmiştir (Tablo 12).

Tablo 12: Oğulotu Ekstrelerinin *C.elegans* Termotoleransı Üzerine Etkilerinin Belirlenmesinde TUKEY Testi Sonuçları

ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA					
BAĞIMLI DEĞİŞKEN:birim					
	(I) grup	(J) grup	Ortalama Fark(I-J)	Standart Hata	Sig.
Tukey HSD	OğulotuKontrol	Ogulotu5	-5.0000	1.7159	0.0751
		Ogulotu50	-7.3333*	1.7159	0.0116
		Ogulotu200	-8.6667*	1.7159	0.0043
	Oğulotu5	OgulotuKontrol	5.0000	1.7159	0.0751
		Ogulotu50	-2.3333	1.7159	0.5547
		Ogulotu200	-3.6667*	1.7159	0.0207
	Oğulotu50	OgulotuKontrol	7.3333*	1.7159	0.0116
		Ogulotu5	2.3333	1.7159	0.5547
		Ogulotu200	-1.3333	1.7159	0.8627
	Oğulotu200	OgulotuKontrol	8.6667*	1.7159	0.0043
		Ogulotu5	3.6667*	1.7159	0.0207
		Ogulotu50	1.3333	1.7159	0.8627

*. Ortalama fark 0.05 seviyesinde anlamlıdır.

Özel durumlarda, veri sayısının az olduğu zamanlarda ‘Tukey’ testi yerine ‘Bonferroni’ testi de seçilebilmektedir. Bu nedenle ‘Tukey’ testi sonuçları, ‘Bonferroni’ testi ile de burada tekrar doğrulanmıştır. Elde edilen ‘Bonferroni’ test sonuçları (Tablo 13) de verilmiştir ve ‘Tukey’ testi sonuçları ile benzer olduğu, OğulotuKontrol grubu ile Oğulotu50 grubu arasında ($p=0.016$), OğulotuKontrol grubu ile Oğulotu200 grubu arasında (0.006) ve Oğulotu5 grubu ile Oğulotu200 grubu arasında (0.039), Sig. değerinin 0.05'ten küçük olduğu belirlenmiştir.

Tablo 13: Oğulotu Ekstrelerinin *C.elegans* Termotoleransı Üzerine Etkilerinin Belirlenmesinde BONFERRONI Testi Sonuçları

ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA					
	Bağımlı eğişken: birim				
	(I) grup	(J) grup	Ortalama Fark(I-J)	Standart Hata	Sig.
Bonferroni	OgulotuKontrol	Ogulotu5	-5.0000	1.7159	0.117
		Ogulotu50	-7.3333*	1.7159	0.016
		Ogulotu200	-8.6667*	1.7159	0.006
	Ogulotu5	OgulotuKontrol	5.0000	1.7159	0.117
		Ogulotu50	-2.3333	1.7159	1.000
		Ogulotu200	-3.6667*	1.7159	0.039
	Ogulotu50	OgulotuKontrol*	7.3333*	1.7159	0.016
		Ogulotu5	2.3333	1.7159	1.000
		Ogulotu200	-1.3333	1.7159	1.000
	Ogulotu200	OgulotuKontrol*	8.6667*	1.7159	0.006
		Ogulotu5	3.6667*	1.7159	0.039
		Ogulotu50	1.3333	1.7159	1.000

*, Ortalama fark 0.05 seviyesinde anlamlıdır.

C.elegans termotolerans özelliğinin oğulotu ekstrelerine bağlı olup olmadığını analiz etmek için uyguladığımız diğer bir test ise, ‘Bağımsız örneklem t-testi’ dir. İki bağımsız grubun ortalamalarını karşılaştırmaya imkân sunan bu testin uygulanabilmesi için gerekli iki ön şart vardır. Bunlardan birincisi değişkenlerin normal dağılımlı olması, ikincisi ise grup varyanslarının homojenliğidir. (Tablo 8) de verilerin normal dağılımlı olup olmadığı ile ilgili sonuçlar elde edilmiştir. Bu sonuçlara göre, Sig. değerleri 0.05’ten büyük çıktığı için (H0 kabul edilir) verilerin normal dağılım gösterdikleri kabul edilmiştir.

Varyansların homojenliği de, (Tablo 3) de varyansların homojenitesi (Homogeneity of variance test) ile ilgili, Sig. değeri 0.436 yani 0.05’ten büyük ($p>0.05$) olarak belirlenmiş ve gruplar arasındaki varyansın homojen olduğu kabul edilmiştir. Dolayısıyla t-testi için ön şartların sağlandığı anlaşılmaktadır. ‘Bağımsız Örneklem t-testi’nde de iki farklı test vardır. Bunlardan biri ‘Levene’ testi diğeri ise ‘t-testi’ dir. ‘Levene’ testinde iki yada daha fazla grubun varyanslarının homojenliği test edilirken, ‘t-testi’nde ise, kullanılan bitki ekstresinin *C.elegans* termotoleransı üzerine etkisi incelenmektedir.

OğulotuKontrol (grup1) ile Oğulotu5 (grup2) arasındaki ‘Levene’ testine bakıldığında, Sig. değeri $0.609>0.05$ olduğu için Levene testi için H0 kabul edilir; yani “%95 güvenle grupların varyansları homojen” olarak kabul edilir. Bu durumda ‘t-testi’ne karar verirken de, Sig. (2-tailed) değerinde, birinci satırdaki 0.074 dikkate alınmıştır ve Sig. (2-tailed) 0.05’ten büyük ($p>0.05$) olduğu için H0 hipotezi kabul edilir. Yani “%95 güvenle iki farklı

konsantrasyonlarda (0 ve 5 µg/ml) uygulanan oğulotu ekstrelerinin *C.elegans* termotoleransına etki ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur. " denir (tablo 14).

Tablo 14: OğulotuKontrol (grup1) ve Oğulotu5 (grup2) Grupları Arasında Bağımsız Örneklem t-Testi Sonuçları

BAĞIMSIZ ÖRNEKLEM T-TESTİ										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
OğulotuKontrol-Oğulotu5 (1-2)		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
biri m	Varyanslar eşit Kabul edildiğinde	0.308	0.609	-2.402	4.000	0.074	-5.00000	2.08167	-10.77963	0.77963
	Varyanslar eşit Kabul edilmediğinde			-2.402	3.485	0.084	-5.00000	2.08167	-11.13295	1.13295

OğulotuKontrol (grup1) ile Oğulotu50 (grup3) arasındaki ‘Levene’ testine bakıldığında, Sig. değeri 0.710>0.05 olduğu için ‘Levene’ testi için H0 kabul edilir, yani "%95 güvenle grupların varyansları homojen" olarak kabul edilir. Bu durumda ‘t-testi’ne karar verirken, Sig. (2-tailed) değerinde, birinci satırdaki 0.025 dikkate alınmıştır ve Sig. (2-tailed) 0.05’ten küçük ($p<0.05$) olduğu için H0 hipotezi reddedilip H1 hipotezi kabul edilir. Yani "%95 güvenle iki farklı konsantrasyonlarda (0 ve 50 µg/ml) uygulanan Oğulotu ekstrelerinin *C.elegans* termotoleransına etki ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır. " denir (tablo 15).

Tablo 15: OğulotuKontrol (grup1) ve Oğulotu50 (grup3) Grupları Arasında Bağımsız Örneklem t-Testi Sonuçları

BAĞIMSIZ ÖRNEKLEM T-TESTİ										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						

OğulotuKontrol -Oğulotu50 (1-3)		F	Sig.	t	df	Sig. (2- tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
b i r i m	Equal variances assumed	0.1 60	0.710	- 3.479	4.00 0	0.025	-7.3333	2.1082	- 13.1866	- 1.48 01
	Equal variances not assumed			- 3.479	3.56 3	0.031	-7.3333	2.1082	- 13.4805	- 1.18 62

OğulotuKontrol (grup1) ile Oğulotu200 (grup4) arasındaki 'Levene' testine bakıldığında, Sig. değeri $0.197 > 0.05$ olduğu için 'Levene' testi için H_0 kabul edilir. Yani "%95 güvenle grupların varyansları homojen" olarak kabul edilir. Bu durumda 't-testi'ne karar verirken Sig. (2-tailed) değerinde, birinci satırdaki 0.008 dikkate alınmıştır ve Sig. (2-tailed) 0.05'ten küçük ($p < 0.05$) olduğu için H_0 hipotezi reddedilip H_1 hipotezi kabul edilir. Yani "%95 güvenle iki farklı konsantrasyonlarda (0 ve 200 $\mu\text{g/ml}$) uygulanan oğulotu ekstralarının *C.elegans* termotoleransına etki ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır. " denir (tablo 16).

Tablo 16: OğulotuKontrol (grup1) ve Oğulotu200 (grup4) Grupları Arasında Bağımsız Örneklem t-Testi Sonuçları

BAĞIMSIZ ÖRNEKLEM T-TESTİ										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
OğulotuKontrol -Oğulotu200 (1-4)		F	Sig.	t	df	Sig. (2- tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
bi ri m	Equal variances assumed	2.390	0.197	-4.914	4.000	0.008	-8.66667	1.76383	-13.56386	- 3.769 48
	Equal variances not assumed			-4.914	2.148	0.034	-8.66667	1.76383	-15.77628	- 1.557 06

Oğulotu5 (grup2) ile Oğulotu50 (grup3) arasındaki ‘Levene’ testine bakıldığında, Sig. değeri $0.801 > 0.05$ olduğu için ‘Levene’ testi için H_0 kabul edilir. Yani "%95 güvenle grupların varyansları homojen" olarak kabul edilir. Bu durumda ‘t-testi’ne karar verirken Sig. (2-tailed) değerinde, birinci satırdaki 0.234 dikkate alınmıştır ve Sig. (2-tailed) 0.05’ten büyük ($p > 0.05$) olduğu için H_0 hipotezi kabul edilir. Yani "%95 güvenle iki farklı konsantrasyonlarda (5 ve 50 µg/ml) uygulanan oğulotu ekstrelerinin *C.elegans* termotoleransına etki ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur." denir (tablo 17).

Tablo 17: Oğulotu5 (grup2) ve Oğulotu50 (grup3) Grupları Arasında Bağımsız Örneklem t-Testi Sonuçları

BAĞIMSIZ ÖRNEKLEM T-TESTİ										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
Oğulotu5-Oğulotu50 (2-3)		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
bi ri m	Equal variances assumed	0.073	0.801	-1.400	4.000	0.234	-2.33333	1.66667	-6.96074	2.29408
	Equal variances not assumed			-1.400	3.994	0.234	-2.33333	1.66667	-6.96366	2.29700

Oğulotu5 (grup2) ile Oğulotu200 (grup4) arasındaki Levene testine bakıldığında Sig. değeri $0.259 > 0.05$ olduğu için Levene testi için H_0 kabul edilir yani " %95 güvenle grupların varyansları homojen olarak kabul edilir. Bu durumda t-testine karar verirken Sig. (2-tailed) değerinde, birinci satırdaki 0.038 dikkate alınmıştır ve Sig. (2-tailed) 0.05’ten küçük ($p < 0.05$) olduğu için H_0 hipotezi reddedilip H_1 hipotezi kabul edilir. Yani "%95 güvenle iki farklı konsantrasyonlarda (5 ve 200 µg/ml) uygulanan oğulotu ekstrelerinin *C.elegans* termotoleransına etki ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır." denir (tablo 18).

Tablo 18: Oğulotu5 (grup2) ve Oğulotu200 (grup4) Grupları Arasında Bağımsız Örneklem t-Testi Sonuçları

BAĞIMSIZ ÖRNEKLEM T-TESTİ										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
Oğulotu5-Oğulotu200 (2-4)		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
biri m	Equal variances assumed	1.7297	0.259	-3.05	4	0.038	-3.6667	1.20185	7.00354	-0.32979
	Equal variances not assumed			-3.05	2.331	0.0766	-3.6667	1.20185	8.19407	0.86074

Oğulotu50 (grup3) ile Oğulotu200 (grup4) arasındaki 'Levene' testine bakıldığında Sig. değeri $0.089 > 0.05$ olduğu için 'Levene' testi için H_0 kabul edilir. Yani " %95 güvenle grupların varyansları homojen olarak kabul edilir. Bu durumda 't-testi'ne karar verirken Sig. (2-tailed) değerinde, birinci satırdaki 0.345 dikkate alınmıştır ve Sig. (2-tailed) 0.05'ten büyük ($p > 0.05$) olduğu için H_0 hipotezi kabul edilir. Yani "%95 güvenle iki farklı konsantrasyonlarda (50 ve 200 $\mu\text{g/ml}$) uygulanan oğulotu ekstralarının *C.elegans* termotoleransına etki ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur. " denir (tablo 19).

Tablo 19: Oğulotu50 (grup3) ve Oğulotu200 (grup4) Grupları Arasında Bağımsız Örneklem t-Testi Sonuçları

BAĞIMSIZ ÖRNEKLEM T-TESTİ										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
Oğulotu50-Oğulotu200 (3-4)		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
bi ri m	Equal variances assumed	5.000	0.089	-1.069	4.000	0.345	-1.33333	1.24722	-4.79617	2.12950
	Equal variances not assumed			-1.069	2.306	0.384	-1.33333	1.24722	-6.07205	3.40539

4.2. Avokado Termotolerans Deneyi Spss Analiz Yorumları

Avokado bitkisinden elde edilen ekstraktların *C. elegans* termotoleransı üzerindeki etkilerini belirlemeye yönelik yapılan araştırmanın ham verileri aşağıdaki gibidir (Tablo20).

Tablo 20: Avokado Ekstrelerinin *C.elegans* Termotoleransı Üzerindeki Etkisine Yönelik Araştırmadan Elde Edilen Ham Veriler

	DENEY GRUBU	CANLI	ÖLÜ	KAYIP
1	Kontrol 1	23	17	0
2	Kontrol 2	22	18	0
3	Kontrol 3	23	17	0
4	75 µg/ml	24	16	0
5	75 µg/ml	30	10	0
6	75 µg/ml	26	14	0
7	150 µg/ml	28	12	0
8	150 µg/ml	25	15	0
9	150 µg/ml	20	20	0

Farklı konsantrasyonlardaki avokado ekstrelerinin, *C. elegans* termotoleransına etkisini belirlemek için, *C. elegans* yaşam süresi ortalamaları arasındaki farkı tespit edilerek varyans analizi yapılmıştır. Diğer bir ifadeyle; deney gruplarındaki hayatta kalan *C. elegans* ortalamaları karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada, uygulanan avokado ekstrelerinin konsantrasyonları ile *C.elegans* organizmalarının hayatta kalma sayıları (termotolerans yetenekleri) birbirinden bağımsızdır. Burada termotolerans ortalamalarını karşılaştırmada, ilk olarak elde edilen verilerin dağılımının normal olup olmadığını göstermek gerekmektedir (Tablo 21).

Bunun için de SPSS 16.0 programında Normalite testi uygulanmıştır. Bu amaçla 1: Avokado-Kontrol, 2: Avokado-75, 3: Avokado-150 deney gruplarının her biri için de, ayrı ayrı H0 ve H1 hipotezleri kurulmuştur.

H0: %95 güvenle veriler normal dağılımlıdır.

H1: %95 güvenle veriler normal dağılımlı değildir.

Görüldüğü gibi, Normalite analizinde iki farklı test sonucu elde edilmektedir. Bunlardan birincisi ‘Kolmogorov-Smirnov’, diğeri ise ‘Shapiro-Wilk’ testidir (Tablo 21).

‘Shapiro-Wilk’ testi genel olarak daha çok tercih edilen bir testtir ve bu analizde de ‘Shapiro-Wilk’ testi sonuçları dikkate alınmıştır. ‘Shapiro-Wilk’ testinin güvenilirlik (Sig.) değerleri 2 grupta (Avokado75 için 0.637 ve Avokado150 için 0.726) 0.05' ten büyük olduğu için bu gruplar için H0 hipotezleri kabul edilmiştir. Yani bu gruplar için "%95 güvenle veriler normal dağılımlıdır." denilebilir. Burada sadece AvokadoKontrol grubu için ‘Shapiro-Wilk’ Sig. değeri 0.000 olarak elde edilmiştir.

Tablo 21: Avokado Ekstrelerinin *C.elegans* Termotoleransına Etkisini Belirlemede Elde Edilen Verilerin Normalite Testi Sonuçları

Normalite Testleri							
	grup	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
birim	AvokadoKontrol	0.385	3	.	0.75	3	0
	Avokado75	0.253	3	.	0.964	3	0.637
	Avokado150	0.232	3	.	0.98	3	0.726

a. Lilliefors Significance Correction

Elde ettiğimiz verilerle ilgili ikinci olarak gruplar arasındaki varyansların homojen olduğunun tespit edilmesi gerekmektedir (Tablo 22). Yapılan varyans homojenite testi için “H0: %95 güvenle, grup varyansları homojendir” ve “H1: %95 güvenle, grup varyansları homojen değildir” hipotezleri kurulmuş ve test edilmiştir. Varyans homojenite testinde elde edilen güven değeri 0.163 olarak tespit edilmiştir. Dolayısıyla 0.05'ten büyük ($p(0.163) > 0.05$) olduğu için (H0 kabul edilerek) grupların varyanslarının homojen olduğu belirlenmiştir.

Tablo 22: Avokado Ekstrelerinin *C.elegans* Termotoleransı Üzerine Etkisine Yönelik Test Gruplarının Varyans Homojenitelerine Ait Test Sonuçları

Varyans Homojenite Testleri			
birim			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.487	2	6	0.163

Tanımlayıcı verilerde (Descriptives) Grup sayısı (N)=3 tür, yani deneyler 3 paralel olarak yapılmıştır. Ortalamalara bakıldığında kontrol grubunda ve 75, 150 gruplarında sırayla; 22.66, 26.66 ve 24.33 şeklinde artış ve azalış görülmektedir (Tablo 23, Şekil 14).

Tablo 23: Avokado Ekstrelerinin *C.elegans* Termotoleransı Üzerine Etkisi İle İlgili Tanımlayıcı Veriler

Tanımlayıcı Veriler								
Birim	N	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	95% Güvenirlik Güven Aralığı		Minimum	Maksimum
					Alt Sınır	Üst Sınır		
AvokadoKontrol	3	22.6667	0.57735	0.33333	21.2324	24.1009	22	23
Avokado75	3	26.6667	3.05505	1.76383	19.0775	34.2558	24	30
Avokado150	3	24.3333	4.04145	2.33333	14.2938	34.3729	20	28
Total	9	24.5556	3.08671	1.0289	22.1829	26.9282	20	30

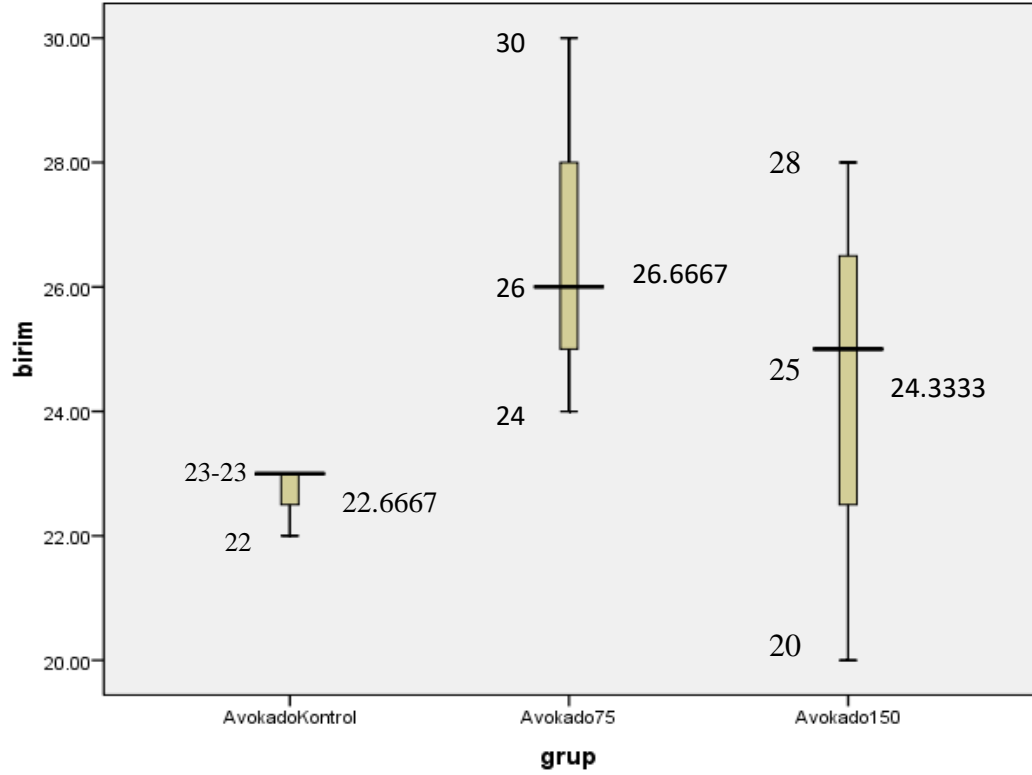
*N: Petri Sayısı

Varyans homojenitesi ve verilerin dağılımıyla ilgili ‘Normalite testi’ sonuçları elde edildikten ve tanımlayıcı veriler değerlendirildikten sonra, avokado bitki ekstraktlarının konsantrasyonlarındaki değişim ile *C.elegans* termotolerans potansiyelleri arasındaki ortalamaları karşılaştırmak için tek yönlü varyans analizine geçilmiştir (Tablo 24).

Tek yönlü varyans analizi için ise şu hipotezler kurulmuştur:

H0: %95 güvenle, grupların ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur (ortalamalar aynıdır).

H1: %95 güvenle, grupların ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır (ortalamalar farklıdır).



Şekil 15: Avokado Ekstrelerinin *C.elegans* Termotoleransı Üzerine Etkisini Belirlemeye Yönelik Analiz Sonuçları

(*Yatay çubuklar ve soldaki rakamlar: 6 saatlik muamele sonunda hayatta kalan *C.elegans* bireylerinin sayısını ifade etmektedir. Sağdaki rakamlar: Grup ortalamalarını göstermektedir.)

Tablo 24: Avokado ANOVA Testi

ANOVA					
birim	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	24.222	2	12.111	1.397	0.318
Within Groups	52	6	8.667		
Total	76.222	8			

Tek yönlü ANOVA testinde elde edilen "Sig." değeri 0.05 güven değerinden büyük olduğu için ($0.318 > 0.05$) olduğu için tek yönlü varyans analizi için kurduğumuz H_0 hipotezi kabul edilmiştir. Yani " %95 güvenle, grupların ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur." sonucuna varılmıştır. Dolayısıyla bu tez araştırması ve

metodolojisi kapsamında Avokado ekstrelerinin *C.elegans* termotoleransına etki etmediği anlaşılmıştır. Bu sonucu da doğrulamak amacıyla ‘Tamhane’, ‘Tukey’ ve ‘Bonferroni’ test sonuçları incelenmiştir (Tablo 25). Burada görüldüğü gibi, üç testte de 0.05’in altında bir sig. değeri görülmemektedir. Bu nedenle gruplar arasında istatistiksel bir farklılık yoktur. Diğer bir ifadeyle, ANOVA sonucunun belirttiği gibi Avokado ekstrelerinin 75 ve 150 µg/ml konsantrasyonlarında *C. elegans* termotoleransına etkisi yoktur.

Tablo 25: Avokado Ekstrelerinin *C.elegans* Termotoleransı Üzerine Etkilerinin Belirlenmesinde TUKEY Testi Sonuçları

ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA							
Bağımlı Değişken: birim							
			Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
	(I) grup	(J) grup				Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	AvokadoKontrol	Avokado75	-4	2.4037	0.293	-11.3752	3.3752
		Avokado150	-1.66667	2.4037	0.776	-9.0419	5.7085
	Avokado75	AvokadoKontrol	4	2.4037	0.293	-3.3752	11.3752
		Avokado150	2.33333	2.4037	0.62	-5.0419	9.7085
	Avokado150	AvokadoKontrol	1.66667	2.4037	0.776	-5.7085	9.0419
		Avokado75	-2.33333	2.4037	0.62	-9.7085	5.0419
Bonferroni	AvokadoKontrol	Avokado75	-4	2.4037	0.441	-11.9021	3.9021
		Avokado150	-1.66667	2.4037	1	-9.5687	6.2354
	Avokado75	AvokadoKontrol	4	2.4037	0.441	-3.9021	11.9021
		Avokado150	2.33333	2.4037	1	-5.5687	10.2354
	Avokado150	AvokadoKontrol	1.66667	2.4037	1	-6.2354	9.5687
		Avokado75	-2.33333	2.4037	1	-10.2354	5.5687
Tamhane	AvokadoKontrol	Avokado75	-4	1.79505	0.38	-16.3817	8.3817
		Avokado150	-1.66667	2.35702	0.909	-18.5659	15.2326
	Avokado75	AvokadoKontrol	4	1.79505	0.38	-8.3817	16.3817
		Avokado150	2.33333	2.92499	0.853	-9.7085	14.3752
	Avokado150	AvokadoKontrol	1.66667	2.35702	0.909	-15.2326	18.5659
		Avokado75	-2.33333	2.92499	0.853	-14.3752	9.7085

C.elegans termotolerans özelliğinin Avokado ekstrelerine bağlı olup olmadığını analiz etmek için uyguladığımız diğer bir test ise, ‘Bağımsız örneklem t-testi’dir. İki bağımsız

grubun ortalamalarını karşılaştırmaya imkân sunan bu testin uygulanabilmesi için gerekli iki ön şart vardır. Bunlardan birincisi değişkenlerin normal dağılımlı olması, ikincisi ise grup varyanslarının homojenliğidir. (Tablo 21)'de verilerin normal olup olmadığı ile ilgili sonuçlar elde edilmiştir. Bu sonuçlara göre, Sig. değerleri 0.05'ten büyük çıktığı için (H0 kabul edilir) verilerin normal dağılım gösterdikleri kabul edilmiştir.

Varyansların homojenliği de, (Tablo 22)'de varyansların homojenitesi (Homogeneity of variance test) ile ilgili Sig. değeri 0.163 yani, 0.05'ten büyük ($p > 0.05$) olarak belirlenmiş ve gruplar arasındaki varyansın homojen olduğu kabul edilmiştir. Dolayısıyla t-testi için ön şartların sağlandığı anlaşılmaktadır. 'Bağımsız örneklem t-testi'nde iki farklı test vardır. Bunlardan biri 'Levene' testi diğeri ise 't-testi' dir. 'Levene' testinde iki yada daha fazla grubun varyanslarının homojenliğini test edilirken, 't-testi'nde kullanılan bitki ekstresinin *C.elegans* termotoleransı üzerine etkisi incelenmektedir.

AvokadoKontrol (grup1) ile Avokado75 (grup2) arasındaki 'Levene' testine bakıldığında Sig. değeri $0.093 > 0.05$ olduğu için 'Levene' testi için H0 kabul edilir. Yani, "%95 güvenle grupların varyansları homojen olarak kabul edilir. Bu durumda t-testi'ne karar verirken Sig.(2-tailed) değerinde, birinci satırdaki 0.090 dikkate alınmıştır ve Sig. (2-tailed) 0.05'ten büyük ($p > 0.05$) olduğu için H0 hipotezi kabul edilir. Yani "%95 güvenle iki farklı konsantrasyonlarda (0 ve 75 $\mu\text{g/ml}$) uygulanan avokado ekstrelerinin *C.elegans* termotoleransına etki ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur." denir (tablo 26).

Tablo 26: AvokadoKontrol (grup1) ve Avokado75 (grup2) Grupları Arasında Bağımsız Örneklem t-Testi Sonuçları

BAĞIMSIZ ÖRNEKLEM T-TESTİ										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
AvokadoKontrol-Avokado75 (1-2)		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
birim	Equal variances assumed	4.830	0.093	2.228	4.000	0.090	-4.00000	1.79505	-8.98387	0.98387

	Equal variances not assumed			- 2.228	2.143	0.147	-4.00000	1.79505	- 11.25100	3.25100
--	--------------------------------------	--	--	------------	-------	-------	----------	---------	---------------	---------

AvokadoKontrol (grup1) ile Avokado150 (grup3) arasındaki ‘Levene’ testine bakıldığında Sig. değeri $0.097 > 0.05$ olduğu için ‘Levene’ testi için H_0 kabul edilir. Yani, "%95 güvenle grupların varyansları homojen olarak kabul edilir. Bu durumda ‘t-testi’ne karar verirken Sig.(2-tailed) değerinde, birinci satırdaki 0.519 dikkate alınmıştır ve Sig. (2-tailed) 0.05’ten büyük ($p > 0.05$) olduğu için H_0 hipotezi kabul edilir. Yani "%95 güvenle iki farklı konsantrasyonlarda (0 ve 150 $\mu\text{g/ml}$) uygulanan avokado ekstralarının *C.elegans* termotoleransına etki ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur." denir (tablo 27).

Tablo 27: AvokadoKontrol (grup1) ve Avokado150 (grup3) Grupları Arasında Bağımsız Örneklem t-Testi Sonuçları

BAĞIMSIZ ÖRNEKLEM T-TESTİ										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
AvokadoKontrol- Avokado150 (1-3)		F	Sig.	t	df	Sig. (2- tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
birim	Equal variances assumed	4.654	0.097	- 0.71	4	0.519	-1.6667	2.35702	- 8.21081	4.87748
	Equal variances not assumed			- 0.71	2.082	0.55	-1.6667	2.35702	- 11.4365	8.10319

Avokado75 (grup2) ile Avokado150 (grup3) arasındaki ‘Levene’ testine bakıldığında Sig.değeri $0.665 > 0.05$ olduğu için ‘Levene’ testi için H_0 kabul edilir. Yani, "%95 güvenle grupların varyansları homojen olarak kabul edilir. Bu durumda ‘t-testi’ne karar verirken Sig. (2-tailed) değerini birinci satırdaki 0.470 dikkate alınmıştır ve Sig. (2-tailed) 0.05’ten büyük

($p > 0.05$) olduğu için H_0 hipotezi kabul edilir. Yani "%95 güvenle iki farklı konsantrasyonlarda (75 ve 150 $\mu\text{g/ml}$) uygulanan avokado ekstraktlarının *C.elegans* termotoleransına etki ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur. " denir (tablo 28).

Tablo 28: Avokado75 (grup2) ve Avokado150 (grup3) Grupları Arasında Bağımsız Örneklem t-Testi Sonuçları

BAĞIMSIZ ÖRNEKLEM T-TESTİ										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
Avokado75- Avokado150 (2-3)		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
birim	Equal variances assumed	0.232	0.655	0.798	4.000	0.470	2.33333	2.92499	-5.78774	10.45440
	Equal variances not assumed			0.798	3.723	0.473	2.33333	2.92499	-6.03160	10.69826

5. TARTIŞMA

Termotolerans, basit omurgasız canlılarda sıcak stresine karşı canlılar tarafından oluşturulan dayanıklılık (direnç) tır. Bu tür canlılarda, strese karşı dayanıklılık (direnç) arttıkça, yaşlanma gecikmekte ve normal yaşam süresi de uzamaktadır. Antioksidan bileşikler çeşitli mekanizmaların da etkisiyle sıcak stresine karşı bir tür direnç sağlayıp, yaşlanmayı geciktirebilmekte ve dolayısıyla da canlıların yaşam süresi artmaktadır (Benedetti ve ark., 2008). Bu yapılan çalışmada da, çeşitli güçlü antioksidan aktiviteleri nedeniyle *Melissa officinalis* (oğulotu) ve *Persea americana* (avokado) bitkilerinin farklı konsantrasyonlarının, termotolerans yani, yaşam süresi üzerindeki etkilerinin test edilmesi amaçlanmıştır.

Wang ve arkadaşları (2018) tarafından yapılan bir çalışmaya göre, RNAi teknolojisi de kullanılarak yaban mersini ekstraktı, *C.elegans*'lar üzerinde farklı konsantrasyonlar (50, 100 ve 200 mg/ml) denenerek test edilmiştir. Yaşam süresi üzerinde de, konsantrasyonlardaki doza bağımlı bir şekilde; 22.2%, 36.5%, ve 44.4% oranlarında bir artış gözlemlenmiştir. Aynı zamanda, yaban mersini ekstresine maruz bırakılan canlılar, maruz bırakılmayanlara göre sıcak strese karşı daha fazla bir termotolerans etki göstermişlerdir. Yapılan bu çalışmada da, oğulotu bitki ekstresinde bu etkiye paralel, benzer bir sonuç elde edilmiştir ve istatistiksel olarak da anlamlıdır.

Fan ve arkadaşları (2011) tarafından yapılan başka bir çalışmaya göre ise, *Ascophyllum nodosum* (bir su yosunu türü) tedavisi uygulanarak antioksidan aktivitesi arttırılan, ıspanak ekstraktına maruz bırakılan *C.elegans*'lar, maruz bırakılmayanlara göre oksidatif strese ve aşırı sıcak strese karşı daha fazla bir termotolerans etki göstermişlerdir. Konsantrasyonlardaki doza bağımlı bir şekilde canlılar; %50 oranında oksidatif strese, %61 oranında da aşırı sıcak strese karşı bir tolerans etki göstermişlerdir. Ispanak ekstresine maruz bırakılmayan canlılarda (kontrol grubunda) ise, oksidatif strese karşı bir tolerans etki gözlenmemiş olup; aşırı sıcak strese karşı ise %38 oranında canlılardan kaynaklanan bir termotolerans etki gözlemlenmiştir. Bu tez çalışmasında da, kontrol gruplarında benzer bir etki gözlemlenmiş olup; ekstreli gruplarda oğulotu bitki ekstresi - ıspanak bitki ekstresine paralel bir sonuç verirken, avokado bitki ekstresi – ıspanak ekstresine zıt bir etki göstermiştir. Bu sonuç avokadonun, kendine has yağı sayesinde *C.elegans*'lar üzerinde koruyucu bir etki gösterdiğine işaret edebilir.

Eleutherococcus senticosus (veya *Acanthopanax senticosus*) ve *Rhodiola rosea* gibi bitki adaptojenlerinin ekstraktları üzerine yapılmış bir başka çalışmada, her iki bitki ekstresi de yine doza bağımlı bir şekilde, *C.elegans*'ların ortalama yaşam sürelerini uzatmıştır. En az 4

birbirinden bağımsız deneyde, 250 µg/ml *Eleutherococcus* (SHE-3) ve 10–25 µg/ml *Rhodiola* (SHR-5) uygulanan canlılarda, yaşam süresi %10-20 oranında önemli derecede anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0.001$), maksimum yaşam süresi 2-3 gün daha artmış, popülasyonda ölen ilk bireyin ölüm süresi ise ertelenmiştir. Daha yüksek konsantrasyonlarda daha az etki gözlemlenirken, test edilen en yüksek konsantrasyonlarda (2500 µg/ml *Eleutherococcus* ve 250 µg/ml *Rhodiola*) yaşam süresinin %15-25 oranlarında kısaldığı görülmüştür ($p<0.001$). Her iki bitki adaptojen ekstraktı da, 3 saat boyunca 35°C’de kısa bir ısı şokuna ve 26°C’de kronik ısıl işleme maruz bırakılan *C.elegans*’larda test edilmiş ve termotoleransı arttırmışlardır (Wiegant ve ark., 2009). Yapılan bu çalışmada ise, oğulotunun en yüksek konsantrasyonları (50 µg/ml ve 200 µg/ml) 6 saat boyunca 35°C’de ısı şokuna maruz bırakılan *C.elegans*’larda termotolerans etki bakımından, bitki adaptojenlerindeki en yüksek konsantrasyonların zıttı bir etki göstererek termotoleransı arttırmıştır ve istatistiksel açıdan da anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0.05$). Avokadonun en yüksek konsantrasyonlarında (75 µg/ml ve 150 µg/ml) ise kontrol grubundaki etkiye paralel istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

Yine başka bir çalışmada, *Bacopa monnieri* bitkisi kullanılarak; (0,1, 0,01 ve 0,001 mg/ml) konsantrasyonlarındaki bitki ekstreleri, 37°C’de termal strese maruz bırakılan *C.elegans*’lar üzerinde test edilmiştir. Deney sonuçlarında, bitki ekstreleri istatistiksel açıdan anlamlı bir şekilde ($p<0.001$) termotoleransı arttırıp; canlılardaki ortalama yaşam süresini de uzatmıştır. Termotolerans etki bakımından, en fazla etkiyi (0,1 mg/ml) konsantrasyonlu bitki ekstresi sağlamıştır. Kontrol grubuyla karşılaştırılan canlıların ortalama yaşam süresi üzerinde de, konsantrasyonlardaki doza bağımlı bir şekilde; 22.5%, 20.27%, ve 25.37% oranlarında bir artış gözlemlenmiştir (Phulara ve ark., 2015). Bu tez çalışmasında da, bitki konsantrasyonlarına bağımlı bir termotolerans etki artışı gözlemlenmiş olup, termotolerans deneyi 35°C’de 6 saat süresince gerçekleştirilmiştir. İstatistiksel açıdan oğulotu bitkisinin (50 ve 200 µg/ml) konsantrasyonlarında da anlamlı bir sonuç elde edilmiştir ($p<0.005$).

Juniper berry ekstraktları kullanılarak yapılan bir çalışmada, bitki ekstresinin (0, 10, 50, 100 ppm) dozları, *C.elegans* termotoleransı ve yaşam süresi üzerine araştırılmıştır. Çalışma, düşük dozun (10 ppm) oldukça etkili olduğunu, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ise yaşam süresini 18.54% oranında arttırdığını ortaya koymuştur. Benzer şekilde, aynı konsantrasyon, yani 10 ppm, çeşitli oksidatif ve termal streslere karşı da etkili bir potansiyel sergilemiştir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, % 30.40 oranında bir termotolerans etki göstermiştir (Pandey ve ark., 2018). Bu çalışma verilerine göre, *Juniper berry* ekstraktlarındaki en düşük konsantrasyonun (10 ppm) zıttı bir etki göstererek, oğulotu

bitkisinin en yüksek konsantrasyonu (200 µg/ml), en fazla termotolerans etkiyi ($p<0.005$) göstermiştir. Bu farklılık bitki ekstraktlarındaki antioksidan bileşenlerin farklılığından kaynaklanmış olabilir.

Mevcut çalışmada da, *C.elegans* yaşam döngüsünün deney sonuçlarını etkilememesi için FUDR kimyasalından yararlanılmış ve yarılanma süresi tespit edilmiştir. Kontrol grubu olarak FUDR'siz grupta LD50 değerini yani, başlangıç organizma sayısı olan 40 bireyin yarısının ölüp yarısının hayatta kaldığı süre (yarılanma) 12. saat olarak tespit edilmiştir. Buna karşın, FUDR'li uygulamada LD50 değeri 6 saat olarak belirlenmiştir. Burada FUDR kullanılmadığında, her ne kadar sıcaklık *C.elegans* yaşam döngüsünü olumsuz etkilese de *C.elegans* yaşam döngüsü itibariyle yeni meydana gelen bireyler, sayının azalmasını geciktirmektedir. Ancak besiyeri ortamına FUDR eklenerek DNA sentezini bloke etmek suretiyle hücre bölünmesi, dolayısıyla da yeni bireylerin oluşması engellendiği için LD50 değeri de daha küçük olmakta ve bu değer teorik olarak sadece ortam ısısından kaynaklanmaktadır. Grupların yaşam sürelerini etkileyebilecek çeşitli iç ve dış (çevresel) faktörler de çalışılan deney ortamında minimum seviyede tutulmuştur.

Oğulotu ekstraktları *C.elegans* üzerine, FUDR'li-LD50 değeri de dikkate alınarak 6 saat süreyle uygulanmıştır. Bu uygulamalarda oğulotunun 5 µg/ml, 50 µg/ml ve 200 µg/ml lik ekstraktları hazırlanmıştır. Kontrol grubuna ise, oğulotu ekstraktları hiç eklenmemiştir (0 µg/ml). Elde edilen veriler kontrol edildiğinde, (bkz. Bulgular, Şekil 14)'e bakıldığında, 6 saat sonunda hayatta kalan *C.elegans* birey sayısının, kontrol grubundan 5-50-200 µg/ml grubuna doğru giderek arttığı görülmektedir. Dolayısıyla ilk bakışta oğulotu ekstraktlarının *C.elegans*'ta bir termotolerans artışına sebep olduğunu ve buna bağlı olarak da, hayatta kalan birey sayısının kontrole göre arttığını söyleyebiliriz. Ancak bu ifadeyi teyit etmek için detaylı istatistiksel analizlere ihtiyaç duyulmaktadır, ki burada da SPSS 16.0 programında ANOVA ve t-Testi analizleri yapılmıştır.

ANOVA testi farklı gruplara ait varyansların farklı olup olmadığını ortaya koymamızı sağlayan bir analiz çeşididir. Ancak gruplar arasında bir farklılık tespit edildiğinde bu farkın, hangi gruplar arasında olduğu bilgisini vermemektedir. Aralarında fark olan grupları belirlemek için Post-hoc karşılaştırmaları ve t-Testi yapılmıştır. ANOVA ve t-Testi'nden önce verilerin NORMALİTE'sini (normal dağılım gösterip göstermediklerini) ve VARYANS HOMOJENİTELERİ'ni (varyansların homojen olup olmadığını) belirlemek için sırasıyla NORMALİTE TESTİ (Normality plots with test) ve VARYANS HOMOJENİTE TESTİ (Homogeneity of variance test) yapılmıştır. Normalite testinde Shapiro-Wilk Sig. değerleri

Oğulotu-Kontrol, Oğulotu-5, Oğulotu-50 ve Oğulotu-200 grubu için (1.000, 1.000 ve 0.463) 0.05'ten büyük olarak tespit edilirken, 200 grubu için Sig. değeri 0.000, elde edilememiştir. Bu sonuçlara göre oğulotu ekstrelerinin *C.elegans* termotoleransı üzerindeki etkisini belirlemek için yapılan deneylere ait verilerin de normal bir dağılıma sahip olduğu anlaşılmaktadır.

Varyans homojenite testinde ise, Levene istatistik Sig. değeri (0.436), 0.05 güven değerinden büyük olarak belirlenmiştir. Dolayısıyla gruplar arasındaki varyansların da homojen olduğu kabul edilmiştir. Verilerin normalliği ve varyansların homojenliği belirlendikten sonra da ANOVA ve t-Testi'ne geçilmiştir.

Bu tez çalışmasında, grup1 (Oğulotu-Kontrol), grup2 (Oğulotu-5), grup3 (Oğulotu-50) ve grup4 (Oğulotu-200) olmak üzere 4 grup incelenmiştir. Bu gruplarda, oğulotu ekstrelerinin *C.elegans* termotoleransı üzerinde anlamlı bir fark oluşturup oluşturmadığını belirlemek için, TEK YÖNLÜ ANOVA analizi ile sonuçlar araştırılmıştır. ANOVA sig. değeri 0.005 olarak belirlenmiştir. Bu değer 0.05'ten küçük ($p < 0.05$) olduğu için grupların ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu anlaşılmıştır. Diğer bir ifade ile, *C.elegans* termotolerans özelliği bir veya birkaç grupta diğerlerine göre önemli ölçüde farklılık göstermektedir. Fakat ANOVA Sig. değeri ile bu farkın hangi gruplar arasında olduğu yorumlanamaz. Bu nedenle varyans homojenite testinde elde edilen LEVENE Sig. değerine bakılarak Post-hoc karşılaştırması yapılmıştır. Çünkü Levene sig. değeri 0.05'ten büyük olursa, yani varyansların homojen olması halinde Post-hoc TUKEY testi yapılırken, bu değer 0.05'ten küçük olduğunda yani varyansların homojen olmaması halinde, Post-hoc TAMHANE testi yapılır. Bu çalışmada bulunan, Levene Sig. değeri 0.436'dır ve 0.05'ten büyük olduğu için de, burada TUKEY testi yapılmıştır.

Tukey testinde 4 grubun her biri ikişerli olarak birbiriyle karşılaştırılmıştır. Bütün ikili karşılaştırmalarda Sig. değerleri 0.05'ten büyük iken, Oğulotu-Kontrol grubu ile Oğulotu-50 grubu arasında, Oğulotu-Kontrol grubu ile Oğulotu-200 grubu arasında ve Oğulotu-5 grubu ile Oğulotu-200 grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (bkz. Bulgular, Tablo 12). Diğer ikili gruplar arasındaki sigma değeri 0.05'ten büyüktür.

TUKEY testi sonucunu doğrulamak amacıyla TUKEY testi yerine de kullanılabilen ve özel durumlarda tercih edilen Bonferroni testi yapılmıştır. Bonferroni testi'nde de TUKEY testi sonuçları ile benzer bir şekilde, Oğulotu-Kontrol grubu ile Oğulotu-50 grubu arasında, Oğulotu-Kontrol grubu ile Oğulotu-200 grubu arasında ve Oğulotu-5 grubu ile Oğulotu-200

grubu arasında Sig. değerleri (0.016, 0.006, 0.039) 0.05'ten küçük bulunmuş, diğer ikili karşılaştırmalarda ise bu değer 0.05'ten büyük çıkmıştır (bkz. Bulgular, Tablo 13).

C.elegans termotoleransı üzerine etki etme açısından hangi gruplar arasında farklılık olduğunu belirlemek için uygulanan diğer test de t-Testi'dir. t-Testi sonuçlarına bakıldığında Oğulotu-Kontrol grubu ile Oğulotu-5 grupları arasında sigma değeri 0.074 ($p>0.05$), Oğulotu-Kontrol grubu ile Oğulotu-50 grubu arasında sigma değeri 0.025 ($p<0.05$), Oğulotu-Kontrol grubu ile Oğulotu-200 grubu arasında sigma değeri 0.008 ($p<0.05$), Oğulotu-5 grubu ile Oğulotu-50 grubu arasında sigma değeri 0.234 ($p>0.05$), Oğulotu-5 grubu ile Oğulotu-200 grubu arasında sigma değeri 0.038 ($p<0.05$), Oğulotu-50 grubu ile Oğulotu-200 grubu arasında sigma değeri 0.345 ($p>0.05$) olarak belirlenmiştir. Görüldüğü gibi t-Testi'nde yapılan bu ikili karşılaştırmalarda sigma değeri 0.05'ten küçük olan değerler, Oğulotu-Kontrol grubu ile Oğulotu-50 grubu arasında, Oğulotu-Kontrol grubu ile Oğulotu-200 arasında ve Oğulotu-5 grubu ile Oğulotu-200 grubu arasında tespit edilmiştir. Dolayısıyla Oğulotu-5 grubu, Oğulotu-Kontrol grubundan farklılık arz etmemiştir.

Veri bulgular çerçevesinde, oğulotu ekstrelerinin *C.elegans* termotoleransını arttırdığını ancak bu artışın ekstrelerin konsantrasyonları ile doğrudan bağlantılı olduğu ortaya çıkmaktadır. Tez araştırmalarında ortaya çıkarılan en önemli veri budur. 50 ve 200 µg/ml konsantrasyonlarında hazırlanan oğulotu ekstrelerinin *C.elegans* termotoleransını artırırken, 5 µg/ml konsantrasyondaki ekstrelerin kontrol grubu ile benzer sonuç vermesi şaşırtıcı olmayan bir sonuçtur. Çünkü 5 µg/ml'nin, 50 µg/ml'nin 1/10 seyreltilmiş halidir ve bu düşük konsantrasyonda olması sebebiyle etkisiz kalacağı rahatlıkla anlaşılabılır bir sonuçtur. Buradan yola çıkarak diyebiliriz ki, oğulotu bitki ekstreleri *C.elegans* termotoleransını artırıcı etki etmekte ve bu etki 50-200 µg/ml düzeylerinde olmaktadır. Ancak bununla beraber oğulotu ekstreleri 5 µg/ml gibi düşük konsantrasyonlarda *C.elegans* termotoleransı üzerine etkisini kaybetmektedir.

Yapılan bir klinik çalışmada ise, *Melissa officinalis* L infüzyonunun, radyoloji personelleri üzerinde oksidatif stres durumunun iyileştirilmesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Melissa infüzyonunun radyasyondan korunmak için bir besin takviyesi olarak kullanıldığında, radyoloji personellerinde oksidatif stres durumunu azalttığı ve DNA hasarını da önemli ölçüde iyileştirdiği sonucuna varılmıştır (Zeraatpishe ve ark., 2011). Oğulotunda bulunan; flavonoidler, rosmarinik asit ve benzodioksol gibi bileşiklerin antioksidan etkileri, B ve C vitaminlerinin etkilerinden 10 kat daha güçlü bulunmuştur (Sofowora ve ark., 2013). Ayrıca,

M. officinalis'in ömrü uzatabildiği ve belleği geri yüklemadaki önemli özelliği de kaynaklarda not edilmiştir (Sun ve ark., 2013).

Elde edilen bu veriler doğrultusunda ileride, oğulotu ekstrelerinin *C.elegans* termotoleransı üzerinde yapılacak daha kapsamlı ve daha detaylı araştırmalarda, 50-200 µg/ml konsantrasyonuna odaklanan ve 45-40-35-30 µg/ml şeklinde alt sınırları ve 250-300-350-400 µg/ml gibi üst sınırları belirleyen analizler yapılabilir. Ayrıca optimum etki konsantrasyonu araştırılabilir. Bunun yanı sıra, oğulotu ekstrelerindeki biyokimyasal bileşikler daha ayrıntılı araştırılıp bu bileşiklerin *C.elegans*'ta termotoleransı arttırıcı etkisini meydana getiren moleküler mekanizmalar, gen ekspresyonu seviyesinde genom ve proteome odaklı incelenebilir. İleri saflaştırma teknikleriyle ve çeşitli biyolojik aktivite yöntemleriyle de etkili olan kimyasal bileşikler tespit edilebilir.

Avokado ekstreleri de *C.elegans* üzerine, FUDR'li-LD50 değeri dikkate alınarak 6 saat süreyle uygulanmıştır. Bu uygulamalarda avokadonun 75 µg/ml ve 150 µg/ml'lik ekstreleri hazırlanmıştır. Kontrol grubuna ise, avokado ekstrelerinden hiç eklenmemiştir (0 µg/ml). Elde edilen veriler kontrol edildiğinde, (bkz. Bulgular, Şekil 15)'e bakıldığında 6 saat sonunda hayatta kalan *C.elegans* birey sayısının, kontrol grubundan 75 ve 150 µg/ml gruplarına doğru artış ve azalış gösterdiği görülmektedir. Ancak bu artış ve azalışlar istatistiksel olarak dikkate alınacak bir farklılık arz etmemektedir. Dolayısıyla avokado ekstrelerinin *C.elegans*'ta bir termotolerans artışına sebep olduğunu ve buna bağlı olarak hayatta kalan birey sayısının kontrole göre arttığını söyleyemeyiz. Bu tespiti teyit etmek için detaylı istatistiksel analizlere ihtiyaç duyulmaktadır ki, burada SPSS 16.0 programında ANOVA ve t-Testi analizleri yapılmıştır.

ANOVA testi farklı gruplara ait varyansların farklı olup olmadığını ortaya koymamızı sağlayan bir analiz çeşididir. Ancak gruplar arasında bir farklılık tespit edildiğinde, bu farkın hangi gruplar arasında olduğu bilgisini vermemektedir. Aralarında fark olan grupları belirlemek için Post-hoc karşılaştırmaları ve t-Testi yapılmıştır. ANOVA ve t-Testi'nden önce verilerin NORMALİTE'sini (normal dağılım gösterip göstermediklerini) ve VARYANS HOMOJENİTELERİ'ni (varyansların homojen olup olmadığını) belirlemek için sırasıyla NORMALİTE TESTİ (Normality plots with test) ve VARYANS HOMOJENİTE TESTİ (Homogeneity of variance test) yapılmıştır. Normalite testinde Shapiro-Wilk Sig. değerleri Avokado-75 ve Avokado-150 grubu için (0.637 ve 0.726), 0.05'ten büyük olarak tespit edilirken, Avokado-Kontrol grubu için Sig. değeri 0.000 elde edilememiştir. Bu sonuçlara

göre, avokado ekstrelerinin *C.elegans* termotoleransı üzerindeki etkisini belirlemek için yapılan deneylere ait verilerin, normal bir dağılıma sahip olduğu anlaşılmaktadır. Varyans homojenite testinde ise, Levene istatistik Sig. değeri (0.163), 0.05 güven değerinden büyük olarak belirlenmiştir. Dolayısıyla gruplar arasındaki varyansların homojen olduğu kabul edilmiştir. Verilerin normalliği ve varyansların homojenliği belirlendikten sonra ANOVA ve t-Testi'ne geçilmiştir.

Bu tez çalışmasında, grup1 (Avokado-Kontrol), grup2 (Avokado-75) ve grup3 (Avokado-150) olmak üzere 3 grup incelenmiştir. Bu gruplarda avokado ekstrelerinin *C.elegans* termotoleransı üzerinde anlamlı bir fark oluşturup oluşturmadığını belirlemek için, TEK YÖNLÜ ANOVA analizi ile sonuçlar araştırılmıştır. ANOVA sig. değeri 0.318 olarak belirlenmiştir. Bu değer 0.05'ten büyük ($p=0.318>0.05$) olduğu için grupların ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı anlaşılmıştır. Diğer bir ifade ile, *C.elegans* termotolerans özelliği, 75 µg/ml ve 150 µg/ml konsantrasyonlarındaki avokado ekstresine bağlı olarak önemli ölçüde bir farklılık göstermemiştir.

Bu tespiti doğrulamak amacıyla varyans homojenite testinde elde edilen Levene Sig. değerine bakmaksızın Post-hoc karşılaştırması yapılmıştır. Bu kapsamda Tukey, Tamhane ve Bonferroni testleri rutin olarak incelenmiştir. Her üç testte de, 0.05'ten küçük bir sig. değerine rastlanmamıştır.

C.elegans termotoleransı üzerine etki etme açısından gruplar arasında farklılık olup olmadığını belirlemek için uygulanan diğer test ise, t-Testi'dir. t-Testi sonuçlarına bakıldığında Avokado-Kontrol grubu ile Avokado-75 grupları arasında sigma değeri 0.090 ($p>0.05$), Avokado-Kontrol grubu ile Avokado-150 grupları arasında sigma değeri 0.519 ($p>0.05$), Avokado-75 grubu ile Avokado-150 grupları arasında sigma değeri 0.470 ($p>0.05$), olarak belirlenmiştir. Görüldüğü gibi t-Testi'nde yapılan bu ikili karşılaştırmalarda da, sigma değerinde 0.05'ten küçük olan bir değer tespit edilmemiştir. Dolayısıyla Avokado-75 grubu ile Avokado-150 grupları, Avokado-Kontrol grubundan farklılık arz etmemiştir.

Bulgular çerçevesinde, avokado ekstrelerinin *C.elegans* termotoleransını arttırmadığı tespit edilmiştir. Ancak bu sonucun ekstrelerin konsantrasyonları ile doğrudan bağlantılı olup olmadığı henüz bilinmemektedir. 75 µg/ml ve 150 µg/ml konsantrasyonlarındaki ekstrelerin kontrol grubu ile benzer bir sonuç vermesi şaşırtıcı bir sonuçtur. Çünkü bu konsantrasyonlarda diğer bitki ekstraktlarının etkili olduğu bilinmektedir. Buradan yola çıkarak diyebiliriz ki, avokado bitki ekstreleri *C.elegans* termotoleransını arttırıcı etki

göstermemektedir. Ancak bu etkinin avokado bitkisinde termotoleransı teşvik edecek biyokimyasal bileşenlerin olmamasından mı, yoksa bu tez kapsamında uygulanan ekstre dozajlarından mı kaynaklandığı kesin olarak bilinmemektedir. Bu sebeple, avokadonun 75 µg/ml'den daha düşük konsantrasyonlarında ve 150 µg/ml'den daha yüksek konsantrasyonlarında termotolerans araştırmaları yapmak gerekmektedir.

Avokadonun antioksidan aktivitesi ise, aşağıdaki gibi çeşitli kısımlarda çeşitli farklılıklar göstermektedir. DPPH testi kullanılarak yapılan bir çalışmada, antioksidan kapasite; yaprak> kabuk> yağı> posası şeklinde bulunmuştur. Antioksidan aktivite, toplam flavonoid içeriği ile pozitif korelasyon göstermiş ve anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$), bu sonuçlar ise gelecekteki antioksidan ürünler için ışık tutacaktır (Kumar ve Cumbalı, 2016). Yapılan bir başka çalışmayla da avokado meyvesinin, iyi miktarda askorbik asit, toplam fenol konsantrasyonu, antioksidan kapasitesi ve yüksek seviye katalaz, askorbat peroksidaz, GR aktivitelerinin olduğu kanıtlanmıştır (Wang ve diğ., 2016).

Elde edilen bu veriler doğrultusunda ileride, avokado ekstrelerinin *C.elegans* termotoleransı üzerinde yapılacak daha kapsamlı ve daha detaylı araştırmalarda, 160-170-180-200 µg/ml şeklinde üst sınırları ve 70-60-50-40-30 µg/ml gibi alt sınırları belirleyen analizleri yapılabilir. Ayrıca optimum etki konsantrasyonu araştırılabilir. Bunun yanı sıra, avokado ekstrelerindeki biyokimyasal bileşikler daha ayrıntılı araştırılıp, bu bileşiklerin *C.elegans*'ta termotoleransı arttırıcı etkisini meydana getiren moleküler mekanizmalar, gen ekspresyonu seviyesinde genom ve proteome odaklı incelenebilir. İleri saflaştırma teknikleriyle ve çeşitli biyolojik aktivite yöntemleriyle de etkili olan kimyasal bileşikler tespit edilebilir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yapılan araştırmalar sonucu, oğulotu bitkisinin *C. elegans* termotoleransını (sıcak strese karşı direnç) arttırıp, doza bağımlı olarak yaşam süresini de belirli bir oranda uzatabildiği tespit edilmiştir. Avokadonun ise, *C. elegans* termotoleransı üzerinde anlamlı olumlu bir etkisi belirlenmemiştir. Bu araştırmada uygulanan dozlardan farklı doz avokado ekstresi uygulamalarının, daha zengin sonuçlar çıkarabileceği düşünülmektedir. Avokado bitkisinin minimum etki dozları araştırılmalı, içerisinde bulunan kendine has yağı sayesinde de, *C. elegans* üzerinde koruyucu bir etkiye neden olmuş olabileceği, bu deney sonuçlarıyla birlikte tahmin edilmektedir.

C. elegans üzerine oğulotu bitki ekstreleri uygulama sonuçlarının, temotoleransı arttırmış olması da, bu bitkinin aynı organizma ile yapılacak diğer çalışmalar için de (obezite, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, kanser, depresyon, Alzheimer vb.) bir kaynak teşkil edebileceği fikrini ortaya koymaktadır. Mevcut araştırma kapsamındaki sonuçlar, oğulotundaki antioksidan bileşiklerin yararını göstermekle birlikte; anti-aging, diğer yaşlanma ve termotolerans çalışmalarında da araştırmacılara çeşitli mekanizmaların aydınlatılmasına ve araştırılmasına ışık tutacaktır.

Aynı zamanda, oğulotu ve avokado gibi antioksidanlar bakımından zengin bitkisel gıdalar, aşırı stres durumlarında stres tepkilerini uyarıcı ve hücrel savunma mekanizmalarını da tetikleyici, ılımlı uyarıcı etkiler göstermekte ve canlılarda stres toleransını arttırmaktadırlar. Bu bulgular, insanlarda stresle ilişkili çeşitli komplikasyonlar için de yeni bitkisel ilaçların geliştirilmesine yardımcı olabilir. Buna ek olarak tedavi amaçlı, oğulotu tüketiminin ülke genelinde yaygınlaştırılması da sağlanabilir. Daha ayrıntılı çalışmalarla, altta yatan fizyolojik ve moleküler sinyal mekanizmalarını açıklığa kavuşturabilmek için ekstraktlardaki biyoaktif bileşenlere odaklanılmalıdır. Bitki ekstrelerinin canlılarda uzun ömürlülüğe sebep olması ve stresle ilgili çeşitli genleri düzenleyebilmesi araştırmacılar için de umut vadetmektedir. Oğulotu ve avokado bitkileri ile *C. elegans* ve diğer deney hayvanları üzerinde yapılacak moleküler çalışmalar da konuya katkı sağlaması açısından önem arz etmektedir.

Sonuç olarak, *C. elegans* ve insanlar arasındaki yüksek genetik benzerlik nedeniyle bu model organizma üzerinde yapılan çalışmalar, araştırmacılara fikir verebilir ve araştırma

sonuçları memeli sistemlerine de aktarılıp tekrar incelenebilir. Araştırmalardan elde edilen bulgularla, bu bitkilerin anti-aging ürünler için de çeşitli formülasyonları geliştirilip kullanılabilir.

Oğulotu ile ilgili mevcut araştırmadan çıkan olumlu sonuçlar ve oğulotu ile yapılan veya yapılacak diğerk araştırmaların da ışığında bu bitkiye yönelik ticari preparatların geliştirilebileceğidşnlmektedir. Avokado için ise farklı dozlarla yapılacak çalışmalar bize daha fazla yol gösterici olacaktır. Omega-3 yağ asidi bakımından zengin bu besin üzerinde yapılacak çeşitli çalışmaların artmasının önemli olacağı kanısındaız.

Bu araştırma aynı zamanda, farklı bitki kaynaklarından elde edilen ekstrelerin *C.elegans* zerinde yapılacak, yaşlanma ve yaşa bağlı bozuklukları hedefleyen gelecekteki çalışmalara da metot olarak yardımcı olabilecektir. Yine bu tür alışmalar, *C.elegans* ile fonksiyonel gıda keşfedilmesine yönelik çalışmalara da örnek teşkil edebilecektir.

KAYNAKLAR

- Abdellatif F, Boudjella H, Zitouni A, Hassani A.** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from leaves of Algerian *Melissa officinalis* L. *EXCLI Journal* 2014, 13, 772-781.
- Abdulazeez SS, Ponnusamy P.** Antioxidant and hypoglycemic activity of strawberry fruit extracts against alloxan induced diabetes in rats. *Pakistan Journal Pharmaceutical Sciences* 2016, 29, 255–260.
- Abuajah CI, Ogbonna AC, Osuji CM.** Functional components and medicinal properties of food: a review. *Journal of Food Science and Technology* 2015, 52(5), 2522-9. doi: 10.1007/s13197-014-1396-5.
- Abuhamdah S, Chazot PL.** Lemon Balm and Lavender Herbal Essential Oils: Old and New Ways to Treat. *Current Anaesthesia & Critical Care* 2008, 19, 221-226.
- ADA Reports.** Position of the American Dietetic Association: Functional foods. *Journal of the American Dietetic Association* 1999, 99, 1278-1285.
- Aiello A, Accardi G, Candore G, Carruba G, Davinelli S, Passarino G, et al.** Nutrigerontology: a key for achieving successful ageing and longevity. *Immunity & Ageing* 2016, doi: 10.1186/s12979-016-0071-2.
- Ajani A, Olanrewaju BO.** Avocado pear fruits and leaves aqueous extracts inhibit α -amylase, α -glucosidase and snp induced lipid peroxidation—an insight into mechanisms involve in management of type 2 diabetes. *International Journal of Applied and Natural Sciences* 2014, 3, 21–34.
- Akgül A.** Baharat Bilimi ve Teknolojisi. *Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları* 1993, 15(14), 451, Ankara.
- Akman Ş.** Canlıların Yaşam Süresini Etkileyen Genler. *Türk Geriatri Derneği* 2008, 109, 76-78 Ankara.
- Alvizouri-Munoz M, Carranza-Madrigal J, Herrera-Abarca JE, Chavez-Carbajal F, Amezcua-Gastelum JL.** Effects of avocado as a source of monounsaturated fatty acids on plasma lipid levels. *Archives of Medical Research* 1992, 23, 163-167.
- Anders O, Maithili CV, Gordon JL.** Using *Caenorhabditis elegans* as a Model for Aging and Age-Related Diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2006, doi: 10.1196/annals.1354.015.

- Anwar J, Spanevellor M, Thome G, Stefanello N, Schmatz R, Gutierres J, Vieira J, Baldissarelli J, Carvalho FB, Melgarejo Da Rosa M, Rubin MA, Fiorenza A, Morsch VM, Chitolina Schetinger MR.** Effects of caffeic acid on behavioral parameters and on the activity of acetylcholinesterase in different tissues from adult rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2012, 103, 386-394.
- Ardiel EL, Rankin CH.** An elegant mind: learning and memory in *Caenorhabditis elegans*. *Learning & Memory* 2010, 17, 191-201.
- Asaolu M, Asaolu S, Fakunle J, Emman-Okon B, Ajayi E, Togun R.** Evaluation of *in-vitro* antioxidant activities of methanol extracts of *Persea americana* and *Cnidioscolus aconitifolius*. *Pakistan Journal of Nutrition* 2010, 9, 1074–1077.
- Ashwell M.** “Concepts of Functional Foods”, ILSI Europe. Brussel, 2002.
- Astani A, Reichling J, Schnitzler P.** *Melissa officinalis* extract inhibits attachment of herpes simplex virus *in vitro*. *Chemotherapy* 2012, 58, 70-77.
- Avery L, Shtonda BB.** Food transport in the *C. elegans* pharynx. *Journal Of Experimental Biology* 2003, 206, 2441-2457.
- Avery L, You YJ.** *C. elegans* feeding. *WormBook* 2012, 21, 1-23.
- Barros L, Duen~as M, Dias MI, Sousa MJ, Santos-Buelga C, Ferreira IC.** Phenolic profiles of cultivated, *in vitro* cultured and commercial samples of *Melissa officinalis* L. infusions. *Food Chemistry* 2013, 136, 1-8.
- Başkal G, Köngül E, Karatoprak GŞ.** *Melissa Officinalis* (Oğul Otu)’in Geleneksel Kullanımı. *Sağlık Bilimleri Dergisi* 2017, 26, 267-269.
- Bayram S.** AVOKADO (*Persea americana* Mill.), 2010 Yılı Avokado Gelişim Raporu. *BATEM* 2010, 39.
- Baysal A.** Beslenme. Hatipoğlu Yayınları, 2009, Ankara.
- Benedetti MG, Foster AL, Vantipalli MC, White MP, Sampayo JN, Gill MS, Olsen A, Lithgow GJ.** “Compounds That Confer Thermal Stress Resistance and Extended Lifespan”, *Experimental Gerontology* 2008, 43, 882–891.
- Bouic PJD.** Sterols and sterolins: new drugs for the immune system? *Drug Discovery Today* 2002, 775-778, doi: 10.1016/S1359-6446(02)02343-7.
- Brai BI, Odetola AA, Agomo PU.** Hypoglycemic and hypocholesterolemic potential of *Persea americana* leaf extracts, *Journal of Medicinal Food* 2007, 10, 356-360.
- Brai BI, Odetola AA, Akindele SK, Fesobi TW, Agomo PU.** Evaluation of aqueous and methanolic leaf extracts of *Persea americana* Mill. In rats fed high lipid diet. *Canadian Journal of Pure & Applied Sciences* 2012, 6, 2079-2088.

- Brenner S.** The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 1974, 77(1), 71-94.
- Burnell AM, Houthoofd K, O’Hanlon K, Vanfleteren JR.** Alternate metabolism during the dauer stage of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Experimental Gerontology* 2005, 40, 850-6.
- Canadanovic-Brunet J, Cetkovic G, Djilas S, et al.** Radical scavenging, antibacterial, and antiproliferative activities of *Melissa officinalis* L. extracts. *Journal of Medicinal Food* 2008, 11, 133-143
- Canbolat M.** Sığır Karaciğerindeki Adenozin Deaminaz Enzim Kinetiği Üzerine *Taxus Baccata* (Porsuk Ağacı) ve *Persea americana* (Avokado) Yapraklarından Elde Edilen Metanol Ekstrelerinin Etkilerinin Araştırılması, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara 2016, 84.
- Capecka E, Mareczek A, Leja M.** Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some *Lamiaceae* species. *Food Chemistry* 2005, 93, 223-226.
- Carranza J, Alvizouri M, Alvarado MR, Chavez F, Gomez M, Herrera JE.** Effects of avocado on the level of blood lipids in patients with phenotype II and IV dyslipidemias. *Archivos Del Instituto De Cardiologia De Mexico* 1995, 65, 342-348.
- Carranza-Madriral J, Herrera-Abarca JE, Alvizouri-Munoz M, Alvarado-Jimenez MR, Carvajal-Zarrabal O, Nolasco-Hipolito C, Aguilar-Uscanga MG, Melo-Santiesteban G, Hayward-Jones PM, Barradas-Dermitz DM.** Avocado oil supplementation modifies cardiovascular risk profile markers in a rat model of sucrose-induced metabolic changes. *Disease Markers* 2014, 1–8.
- CDC,** 2012. Vital signs: awareness and treatment of uncontrolled hypertension among adults—United States, 2003-2010, MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2012/09/07 ed., pp. 703-709.
- Chavez-Carbajal F.** Effects of a vegetarian diet vs. a vegetarian diet enriched with avocado in hypercholesterolemic patients. *Archives of Medical Research* 1997, 28, 537-541.
- Colquhoun DM, Moores D, Somerset SM, Humphries JA.** Comparison of the effects on lipoproteins and apolipoproteins of a diet high in monounsaturated fatty acids, enriched with avocado, and a high-carbohydrate diet. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1992, 56, 671-677.
- Corsi A, Lin J, Opoku AR, Geheeb KM, Hutchings AD, Terblanche SE, Jager AK, Staden JV.** Life cycle of the *C. elegans* hermaphrodite. *Analytical Biochemistry* 2006.
- Coşkun T.** Fonksiyonel Besinlerin Sağlığımız Üzerine Etkileri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2005, 48, 69-84.

- Cypser JR, Johnson TE.** Hormesis in *Caenorhabditis elegans* dauer-defective mutants. *Biogerontology* 2003, 4, 203-214.
- Das L, Bhaumik E, Raychaudhuri U, Chakraborty R.** Role of nutraceuticals in human health. *Journal of Food Science and Technology* 2012, 49(2), 173-183.
- Dastmalchi K, Dorman HJD, Oinonen PP, Darwis Y, Laakso I, Hiltunen R.** Chemical composition and *in vitro* antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract, LWT. *Journal of Food Science and Technology* 2008, 41, 391-400.
- De Sousa AC, Alviano DS, Blank AF, Alves PB, Alviano CS and Gattas CR.** *Melissa officinalis* L. Essential oil: antitumoral and antioxidant activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2004, 52 (9), 2485-2489.
- Del Toro-Equihua M, Velasco-Rodriguez R, Lopez-Ascencio R, Vasquez C.** Effect of an avocado oil-enhanced diet (*Persea americana*) on sucrose-induced insulin resistance in Wistar rats. *Journal of Food and Drug Analysis* 2016, 24, 350-357.
- Dimitrova Z, Dimov B, Manolova N, Pancheva S, Ilieva D, Shishkov S.** *Melissa officinalis* L. özlerinin antiherpes etkisi. *Acta Microbiologica Bulgarica* 1993, 29, 65-72.
- Driscoll M, Chalfie M.** Developmental and abnormal cell death in *C. elegans*. *Trends in Neurosciences* 1992, 15, 15-19.
- Duarte PF, Chaves MA, Borges CD, Mendonça CRB.** Avocado: characteristics, health benefits and uses. *Food Technology* 2016, 747-754, ISSN: 1678-4596.
- Duester KC.** Avocados a look beyond basic nutrition for one of nature's whole foods. *Nutrition Today* 2000, 35(4), 151-157.
- Dzeufiet PDD, Mogueo A, Bilanda DC, et al.** Antihypertensive potential of the aqueous extract which combine leaf of *Persea americana* Mill. (Lauraceae), stems and leaf of *Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf. (Poaceae), fruits of *Citrus medica* L. (Rutaceae) as well as honey in ethanol and sucrose experimental model. *BMC Complementary Alternative Medicine* 2014, 14, 507.
- Edem D, Ekanem I, Ebong P.** Effect of aqueous extracts of alligator pear seed (*Persea americana* mill) on blood glucose and histopathology of pancreas in alloxan-induced diabetic rats. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* 2009, 22, 272-276.
- Ee N, Ufelle S, Anele T.** Effect of methanolic seed extract of (avocado pear) on prothrombin time and activated partial thromboplastin time in mice. *Journal of Experimental Research* 2015, 3, 92-96.

- Ergen N.** Türk Halk İlaçlarının *Caenorhabditis Elegans* Ömür Uzunluğu Üzerine Etkisinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara 2012, 91.
- Ersoy S.** *Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis* bitkisinin kardiyovasküler sistem üzerine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara 2009, 80.
- Eser E.** Sağlıkla ilgili yaşam kalitesinin kavramsal temelleri ve ölçümü. *Sağlıkta Birlik Dergisi* 2006, 1, 1-5.
- Fan D, Hodges DM, Zhang J, Kirby CW, Ji X, Locke SJ, Critchley AT, Prithiviraj B.** Commercial extract of the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* enhances phenolic antioxidant content of spinach (*Spinacia oleracea* L.) which protects *Caenorhabditis elegans* against oxidative and thermal stress. *Food Chemistry* 2011, 124, 195-202.
- Fatema K, Zwar NA, Milton AH, Ali L, Rahman B.** Prevalence of risk factors for cardiovascular risk factors for cardiovascular diseases in Bangladesh: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2016, 11: e0160180.
- Fecka I, Turek S.** Determination of water-soluble polyphenolic compounds in commercial herbal teas from *Lamiaceae*: *Peppermint*, *Melissa*, and *Sage*. *Journal Agricultural Food Chemistry* 2007, 55, 10908-10917.
- Ferreira A, Proenca C, Serralheiro M, Araujo M.** The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *Journal of Ethnopharmacology* 2006, 108, 31-37.
- Fielenbach N, Antebi A.** *C. elegans* dauer formation and the molecular basis of plasticity. *Genes and Development* 2008, 22(16), 2149-2165.
- Finch CE, Ruvkun G.** The genetics of aging. *Annual Review of Genomics and Human Genetics* 2001, 2, 435-462.
- Fujimoto A, Masuda T.** Antioxidation mechanism of rosmarinic acid, identification of an unstable quinone derivative by the addition of odourless thiol. *Food Chemistry* 2012, 132, 901-906.
- Fulgoni VL, Dreher M, Davenport AJ.** Avocado consumption is associated with better diet quality and nutrient intake, and lower metabolic syndrome risk in US adults: results from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2001-2008. *Nutrition Journal* 2013, 12, 1.
- Friberg J.** The control of growth and metabolism in *Caenorhabditis Elegans* Umea Centre for Molecular Pathogenesis, *Umea University* 2006.

- Gouegni EF, Abubakar H.** Phytochemical, toxicological, biochemical and haematological studies on avocado (*Persea americana*) in experimental animals. *Nigerian Food Journal* 2013, 31, 64–69.
- Grant WC.** Influence of avocados on serum cholesterol. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 1960, 104, 45-7.
- Gruber J, Chen CB, Fong S, Ng LF, Teo E, Halliwell B.** *Caenorhabditis elegans*, what we can and cannot learn from ageing worms? *Antioxidants & Redox Signaling* 2015, 23(3), 256-79.
- Gruber J, Ng LF, Poovathingal SK, Halliwell B.** Deceptively simple but simply deceptive-*Caenorhabditis elegans* lifespan studies: Considerations for aging and antioxidant effects. *FEBS Letters* 2009, 583, 3377-87.
- GuhaThakurta D. et al.** Identification of a novel *cis*-regulatory element involved in the heat shock response in *Caenorhabditis elegans* using microarray gene expression and computational methods. *Genome Research* 2002, 12, 701-712.
- Hacıoğlu G, Kurt G.** Tüketicilerin fonksiyonel gıdalara yönelik farkındalığı, kabulü ve tutumları: İzmir ili örneği. *Business and Economics Research Journal* 2012, 3(1), 1309-2448.
- Hammarlund M, Jin Y.** Axon regeneration in *C.elegans*. *Current Opinion in Neurobiology* 2014, 27, 199-207.
- Hamouda AF.** Study on the effect of avocado on apoptosis, oxidative stress and injuries induced by diethyl nitrosamine in rat liver. *Journal of Pharmacy and Pharmacol* 2015, 3, 243–252.
- Hertweck M, Hoppe T, Baumeister R.** *C.elegans*, a model for aging with high-throughput capacity. *Experimental Gerontology* 2003, 38, 327-328.
- Hortviz HR.** Worms Life and Death (Nobel Lecture). *ChemBioChem*, 2003, 4, 697-711.
- Hosseini A, Hosseinzadeh H.** A review on the effects of *Allium sativum* (Garlic) in metabolic syndrome. *Journal of Endocrinological Investigation* 2015, 38, 1147-1157.
- Huang H, Hauk C, Yum MY, Rizhsky L, Widrechner MP, McCoy JA.** Rosmarinic acid in *Prunella vulgaris* ethanol extract inhibits lipopolysaccharide-induced prostaglandin E2 and nitric oxide in RAW-267,7 mouse macrophages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2009, 57, 10579- 10589.
- Hubbard EJA, Greenstein D.** Introduction to the germ line. *The C. elegans Research Community* 2005, doi/10.1895/wormbook.1.18.1.

- Husena R, Andoua Y, İsmailb A, Shiraia Y, Hassanc MA.** Enhanced polyphenol content and antioxidant capacity in the edible portion of Avocado dried with superheated-steam, *International Journal of Advanced Research* 2014, 2, 241-48.
- ILSI.** Perspectives on ILSI's international activities on functional foods. <http://www.ilsi.org>. (Erişim tarihi: 10/10/2018).
- Imafidon K.** Liver function status of hypertensive and normotensive rats administered *Persea americana* Mill. (Avocado) seeds. *Academic Journal of Plant Sciences* 2010, 3, 130–133.
- Imafidon K, Amaechina F.** Effects of aqueous seed extract of *Persea americana* Mill. (avocado) on blood pressure and lipid profile in hypertensive rats. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences* 2010, 4, 116-121.
- Jackson RC, Weber G.** Adenosine deaminase and adenosine kinase in rat hepatomas and kidney tumors. *British Journal of Cancer* 1978, 37, 701-713.
- Johnson TE.** A personal retrospective on the genetics of aging. *Biogerontology* 2002, 3, 7-12.
- Kaletta T, Hengartner MO.** Finding function in novel targets: *C.elegans* as a model organism. *Nature Reviews Drug Discovery* 2006, 5, 387-398.
- Karasova G, Lehotay J.** Chromatographic determination of derivatives of p-hydroxybenzoic acid in *Melissa officinalis* by HPLC. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 2005, 28, 2421-2431.
- Kasnak C, Palamutoğlu R.** Doğal antioksidanların sınıflandırılması ve insan sağlığına etkileri. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi* 2015, 3(5), 226-234.
- Katalinic V, Milos M, Kulisic T, Jukic M.** Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chemistry* 2006, 94, 550–557.
- Kiliçgün H, Göksen G, Olgun A, Ercisli S.** Life span effects of *Hypericum Perforatum* extracts on *Caenorhabditis elegans* under heat stress. *Pharmacognosy Magazine* 2012, 8, 325.
- Kodaz D.** Fonksiyonel Gıdalar. T.C Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, 2013.
- Koytchev R, Alken RG, Dundarov S.** Balm-Mint extract (Lo-701) for topical treatment of recurring *Herpes labialis*. *Phytomedicine* 1999, 6(4), 225-230.
- Köksal Z.** Dağ Çayı (*Sideritis brevibracteata*) Bitkisinin *Caenorhabditis elegans* Termotoleransı Üzerindeki Etkisinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzincan 2010, 68.

- Kristensen TN, Sorensen JG, Loeschke V.** Mild heat stress at a young age in *Drosophila melanogaster* leads to increased Hsp70 synthesis after stress exposure later in life. *Journal of Genetics* 2003, 82, 89-94.
- Krumreich FD, Borges CD, Mendonça CRB, Alves CS, Zambiasi RC.** Bioactive compounds and quality parameters of avocado oil obtained by different processes. *Food Chemistry* 2018, 257, 376-381.
- Kumar B, Cumbal L.** UV-Vis, FTIR and antioxidant study of *Persea americana* (Avocado) leaf and fruit: a comparison. *Revista Farmaceuticas Ciencias Quimico* 2016, 14, 13–20.
- Lai CH, Chou CY, Chang LY, Liu CS, Lin WC.** Identification of Novel Human Genes Evolutionarily Conserved in *Caenorhabditis elegans* by Comparative Proteomics. *Genome Research* 2000, 10, 703-713.
- Lakowski B, Hekimi S.** The genetics of caloric restriction in *Caenorhabditis Elegans*. *PNAS USA* 1998, 95, 13091-13096.
- Lerman-Garber I, Ichazo-Cerro S, Zamora-Gonzalez J, Cardoso-Saldana G, Posadas Romero C.** Effect of a high-monounsaturated fat diet enriched with avocado in NIDDM patients. *Diabetes Care* 1994, 17, 311.
- Lidebjer C, Leanderson P, Ernerudth J, Jonasson L.** Low plasma levels of oxygenated carotenoids in patients with coronary artery disease. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 2007, 17(6), 448-456.
- Lima CR, Vasconcelos CFB, Costa-Silva JH, et al.** Anti-diabetic activity of extract from *Persea americana* Mill. Leaf via the activation of protein kinase B (PKB/Akt) in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2012, 141, 517-525.
- Lithgow GJ, White TM, Melov S, Johnson TE.** Thermotolerance and extended life-span conferred by single-gene mutations and induced by thermal stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A* 1995, 92, 7540-7544.
- Lo HM, Tsai YJ, Du WY, Tsou CJ, Wu WB.** A naturally occurring carotenoid, lutein, reduces PDGF and H202 signaling and compromised migration in cultured vascular smooth muscle cells. *Journal of Biomedical Science* 2012, 19(1), 18.
- Lu QY, Zhang Y, Wang Y, et al.** California hass avocado: profiling of carotenoids, tocopherol, fatty acid and fat content during maturation and from different growing areas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2009, 57, 10408-10413.
- Mackay J, Mensah GA, Mendis S, Greenlund K.** The Atlas of Heart Disease and Stroke. World Health Organization: Geneva, 2004.

- Mango SE.** The *C. elegans* pharynx: a model for organogenesis. *WormBook* 2007, doi: 10.1895/wormbook.1.129.1.
- Mazzanti G, Battinelli L, Pompeo C, et al.** Inhibitory activity of *Melissa officinalis* L. extract on herpes simplex virus type 2 replication. *Natural Product Research* 2008, 22, 1433-1440.
- McCormack LA, Laska MN, Larson NI, Story M.** Review of the Nutritional Implications of Farmers' Markets and Community Gardens: A Call for Evaluation and Research Efforts. *Journal of the American Dietetic Association* 2010, 110, 399-408.
- Meftahizade H, Sargsyan E, Moradkhani H.** Investigation of antioxidant capacity of *Melissa officinalis* L. essential oils. *Journal of Medicinal Plants Research* 2010, 4, 1391-1395.
- Mendenhall AR, et al.** Expression of a single-copy hsp-16,2 reporter predicts life span. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 2012, 67, 726-733.
- Monica P, Geetha A.** The modulating effect of *Persea americana* fruit extract on the level of expression of fatty acid synthase complex, lipoprotein lipase, fibroblast growth factor-21 and leptin – A biochemical study in rats subjected to experimental hyperlipidemia and obesity. *Phytomedicine* 2015, 22, 939-945.
- Monica P, Geetha A.** Effect of hydroalcoholic fruit extract of *Persea americana* Mill. on high fat diet induced obesity: a dose response study in rats. *Indian Journal of Experimental Biology* 2016, 54, 370-378.
- Odo CE, Nwodo OF, Joshua PE, Ugwu OP, Okonkwo CC.** Acute toxicity investigation and anti-diarrhoeal effect of the chloroform-methanol extract of the seeds of *Persea americana* in albino rats. *Journal of Pharmacy Research* 2013, 6, 331-35.
- Ojewole JA, Amebeoku GJ.** Anticonvulsant effect of *Persea americana* Mill (Lauraceae) (Avocado) leaf aqueous extract in mice, *Phytotherapy Research* 2006, 20, 696-700.
- Ojewole JA, Kamadyaapa DR, Gondwe MM, Moodley K, Musabayane CT.** Cardiovascular effects of *Persea americana* Mill (Lauraceae) (avocado) aqueous leaf extract in experimental animals. *Cardiovascular Journal of Africa* 2007, 18, 69–76.
- Olaniyan MF.** Effect of liquid extract of pear avocado leaf (*Persea americana*) on plasma levels of amino transferases, cholesterol and total bile acids in hypertensive patients. *The American Journal of Medical Sciences* 2014, 4, 87-91.
- Olsen A, Vantipalli MC, Lithgow GJ.** Lifespan extension of *Caenorhabditis elegans* following repeated mild hormetic heat treatments. *Biogerontology* 2006, 7, 221-230.

- Ortega JAA, Lopez MR, Torre RRR.** Effect of electric field treatment on avocado oil. *International Journal of Research in Agriculture and Food Sciences*. 2013, 1, 13-22.
- Ortiz-Avila O, Esquivel-Martinez M, Olmos-Orizaba BE, Saavedra-Molina A, Rodriguez-Orozco AR, Cortes-Rojo C.** Avocado oil improves mitochondrial function and decreases oxidative stress in brain of diabetic rats. *Journal of Diabetes Research* 2015, 1-9.
- Ortiz-Avila O, Gallegos-Corona MA, Sanches-Briones LA, et al.** Protective effects of dietary avocado oil on impaired electron transport chain function and exacerbated oxidative stress in liver mitochondria from diabetic rats. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes* 2015, 47, 337-353.
- Owolabi MA, Jaja SI, Coker HAB.** Vasorelaxant action of aqueous extract of the leaves of *Persea americana* on isolated thoracic rat aorta. *Fitoterapia* 2005, 76, 567–573.
- Owolabi M, Coker H, Jaja S.** Bioactivity of the phytoconstituents of the leaves of *Persea americana*. *Journal of Medicinal Plants Research* 2010, 4, 1130–1135.
- Owolabi MA, et al.** Bioactivity of the phytoconstituents of the leaves of *Persea americana*. *Journal of Medicinal Plants Research* 2010, 1130-1135, doi: 10.5897/JMPR09.429.
- Özcan M.** Fonksiyonel Gıdalar ve Fitokimyasallar. *Akademik Gıda Dergisi* 2006, Konya.
- Özer Z, Tursun N, Önen H.** *Yabancı Otlarla Sağlıklı Yaşam* 2001, 253, Ankara.
- Padmanabhan M, Arumugam G.** Effect of *Persea americana* (avocado) fruit extract on the level of expression of adiponectin and PPAR- γ in rats subjected to experimental hyperlipidemia and obesity. *Journal of Complementary & Integrative Medicine* 2014, 11, 107-119.
- Pandey S, Tiwari S, Kumar A, Niranjana A, Chand J, Lehri A, Chauhan PS.** Antioxidant and anti-aging potential of Juniper berry (*Juniperus communis* L.) essential oil in *Caenorhabditis elegans* model system. *Industrial Crops & Products* 2018, 120, 113-122.
- Paniagua JA, Sacristana AG, Romero I, Vidal-Puig A, Latre JM, Sanchez E, Perez-Matinez P, Perezjuenez F.** Monounsaturated fat-rich diet prevents central body fat distribution and decreases postprandial adiponectin expression induced by a carbohydrate-rich diet in insulin-resistant subjects. *Diabetes Care* 2007, 30, 1717-1723.
- Mills S, Bone K.** The Essential Guide to Herbal Safety. *Elsevier, US* 2005, 495-497.
- Papathanasiou G, Zerva E, Zacharis I, et al.** Association of high blood pressure with body mass index, smoking and physical activity in healthy young adults. *The Open Cardiovascular Medicine Journal* 2015, 9, 5-17.

- Pereira RP, Fachinetto R, de Souza Prestes A, et al.** Antioxidant effects of different extracts from *Melissa officinalis*, *Matricaria recutita* and *Cymbopogon citratus*. *Neurochemical Research* 2009, 34, 973-983.
- Phulara SC, Shukla V, Tiwari S, Pandey R.** *Bacopa monnieri* promotes longevity in *Caenorhabditis elegans* under stress conditions. *Pharmacognosy Magazine* 2015, 11(42), 410-416.
- Pirinç B, Türkoğlu Ş.** Etil paraben ve metil parabenin *Caenorhabditis Elegans*’ta yumurta verimi, yaşama yüzdesi ve fiziksel büyüme üzerine olan etkilerinin araştırılması. *CSJ* 2016, Vol. 37, No.4, ISSN: 1300-1949.
- Pushpangadan P, George V, Sreedevi P, Biney AJ, Anzar S, Aswany T, Ninawe AS, Ijinu TP.** Functional foods and nutraceuticals with special focus on mother and child care. *Annals of Phytomedicine*, 2014, 3(1), 4-24.
- Rafieian-Kopaie M, Baradaran A.** Plants antioxidants: from laboratory to clinic. *Journal of Nephropathology* 2013, 2, 152-153.
- Rao USM, Adinew B.** Remnant b-cell-stimulative and anti-oxidative effects of *Persea americana* fruit extract studied in rats introduced into streptozotocin – induced hyperglycaemic state. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines* 2011, 8, 210-217.
- Rattan SIS.** Hormesis in aging. *Aging Research Reviews* 2008, 7, 63-78.
- Riddle DL, Blumenthal T, Meyer BJ, Priess JR.** *C. elegans* II, 2nd edition. *Cold Spring Harbor Monograph Series* 2010, Vol 33.
- Richter K, Haslbeck M, Buchner J.** The heat shock response: life on the verge of death. *Molecular Cell* 2010, 40, 253-266.
- Rodriguez SDG, Flores GM, Silva PC, Rizzo S, Torre A, Pena A.** Isolation and chemical identification of lipid derivatives from Avocado (*Persea americana*) pulp with antiplatelet and antithrombotic activities. *Food & Function* 2015, 6, 192-202.
- Sabate J, Wien M, Haddad E.** Post-ingestive effects of avocados in meals on satiety and gastric hormone blood levels. *Human Health and Nutrition* 2015, 459-461.
- Salazar MJ, El Hafidi M, Pastelin G, Ramírez-Ortega MC, Sánchez-Mendoza MA.** Effect of an avocado oil-rich diet over an angiotensin II-induced blood pressure response. *Journal of Ethnopharmacology* 2005, 98, 335–338.
- Sarı AO.** Farklı Kökenli *Melissa Officinalis* L. (oğulotu) ’lerin Menemen ve Bozdağ Ekolojik Koşullarında Bazı Agronomik ve Kalite Özellikleri Üzerinde Araştırma, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bornova/İZMİR 2001, 91.

- Sasaki M, Ozawa Y, Kurihara T, Kubota S, Yuki K, Noda K et al.** Neurodegenerative influence of oxidative stress in the retina of a murine model of diabetes. *Diabetologia* 2010, 53(5), 971-979.
- Savaş N, Öğüt S, Olgun A.** Toksikolojik araştırmalarda alternatif bir organizma: *Caenorhabditis elegans* (*C.elegans*). *ADÜ Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi* 2018, 2(2), 53-60.
- Savaşhan Ç, Sarı O, Aydoğan Ü, Erdal M.** İlkokul çağındaki çocuklarda obezite görülme sıklığı ve risk faktörleri. *Türk Aile Hekimliği Dergisi* 2015, 19(1), 14-21.
- Savurdan H.** Üniversite Öğrencilerinin Fonksiyonel Besin Bilgi Düzeylerini Belirlemeye Yönelik Bir Ölçek Geliştirme: Geçerlik ve Güvenirlik Çalışması, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, Konya 2007, 108.
- Schaffitzel E, Hertweck M.** Recent aging research in *Caenorhabditis elegans*. *Exp Gerontol.* 2006, 41(6), 557-63. Review.
- Schnitzler P, Schuhmacher A, Astani A, Reichling J.** *Melissa officinalis* oil affects infectivity of enveloped herpesviruses. *Phytomedicine* 2008, 15, 734-740.
- Segalat L.** Drug discovery: here comes the worm. *ACS Chemical Biology* 2006, 1(5), 277-8.
- Sepide M, Rafieian K, Sara K.** *Melissa officinalis* L: A Review Study With an Antioxidant Prospective. *Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2017, 22(3), 385-394.
- Shaham S.** Glial development and function in the nervous system of *Caenorhabditis elegans*. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 2015, 7(4), doi: 10.1101/cshperspect.a020578.
- Shakeri A, Sahebkar A, Javadi B.** *Melissa officinalis* L.- A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology* 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2016.05.010>
- Silhankova M, Korswagen HC.** Migration of neuronal cells along the anterior-posterior body axis of *C. elegans*: Wnts are in control. *Current Opinion in Genetics & Development* 2007, 17, 320-325.
- Sin O, Michels H, Nollen EAA.** Genetic screens in *Caenorhabditis elegans* models for neurodegenerative diseases. *Biochimica et Biophysica Acta* 2014, 1842, 1951-1959.
- Singh KD, Zheng X, Milstein S, Keller M, Roschitzki B, Grossmann J, et al.** Differential regulation of germ line apoptosis and germ cell differentiation by CPEB family members in *C. elegans*. *PLoS ONE* 2017, 12(7): e0182270, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182270>.

- Sofowora A, Ogunbodede E, Onayade A.** The role and place of medicinal plants in the strategies for disease prevention. *African Journal Traditional Complementary Alternative Medicines* 2013, 10, 210-229.
- Sohal RS, Mockett RJ, Orr WC.** Mechanism of aging: An appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Radical Biology & Medicine* 2002, 33, 575-86.
- Stucker M, Memmel U, Hoffmann M, Hartung J, Altmeyer P.** Vitamin B12 cream containing Avocado oil in the therapy of plaque psoriasis, *Dermatology* 2001, 203, 141-147.
- Sun ZK, Yang HQ, Chen SD.** Traditional Chinese medicine: a promising candidate for the treatment of Alzheimer's disease. *Translational Neurodegeneration* 2013, 2, 1-7.
- Şafak M.** Sağlık Çalışanlarının Fonksiyonel Besinlere Yönelik Bilgi, Tutum ve Tüketim Durumlarının Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Haliç Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul 2012, 79.
- Şaşkara C, Hürkul MM, Güvenç A.** Aktarlarda satılan *Melissa officinalis* L.(Oğulotu, Melisa) üzerinde morfolojik ve anatomik çalışmalar. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi* 2010, 39, 123-143.
- Tabeshpour J, Razavi BM, Hosseinzadeh H.** Effects of Avocado (*Persea americana*) on Metabolic Syndrome: A Comprehensive Systematic Review. *Phytotherapy Research* 2017, doi:10.1002/ptr.5805.
- Tavernarakis N, Driscoll M.** Caloric restriction and lifespan: a role for protein turnover. *Mechanism of Ageing and Development* 2002, 123, 215-229.
- Tekün E.** Farklı Eğitim Düzeylerindeki Obez Olan ve Olmayan Bireylerin Fonksiyonel Besinleri Kullanma Durumlarının Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Haliç Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul 2015, 85.
- Tentolouris N, Arapostathi C, Perrea D, Kyriaki D, Revenas C, Katsilambros N.** Differential effects of two isoenergetic meals rich in saturated or monounsaturated fat on endothelial function in subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2008, 31, 2276-2278.
- Triantaphyllou K, Blekas G, Boskou D.** Antioxidative properties of water extracts obtained from herbs of the species *Lamiaceae*. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 2001, 52, 313-317.
- Tuzlacı E.** Türkiye'nin Bitkisel Halk İlaçları. *Alfa Basımevi* 2006, 195-198, İstanbul.
- Ulbricht C, Brendler T, Gruenwald J, et al.** Lemon balm (*Melissa officinalis* L.): an evidence-based systematic review by the Natural Standard Research Collaboration. *Journal of Herb Pharmacotherapy* 2004, 5(4), 71-114.

- Unlu NZ, Bohn T, Clinton SK, Schwartz SJ.** Carotenoid absorption from salad and salsa by humans is enhanced by the addition of avocado or avocado oil. *The Journal of Nutrition* 2005, 135, 431-6.
- USDA and HHC.** Report of the Dietary Guidelines Advisory Committee on the Dietary Guidelines for Americans (Part D. Section 1: *Energy Balance Report*. D1:53). U.S. Department of Agriculture and U.S. Department of Health and Human Services. Washington, DC. 2010.
- USDA (U.S. Department of Agriculture).** Avocado, almond, pistachio and walnut Composition. Nutrient Data Laboratory. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 24. U.S. Department of Agriculture. 2011, Washington, DC.
- Uno M, Nishida E.** Lifespan-regulating genes in *C. elegans*. *npj Aging and Mechanisms of Disease* 2016, 2(1), 16010. doi: 10.1038/npjamd.2016.10
- Ünlü E.** Deri yaşlanmasında korunma ve tedavi yöntemleri. *Dermatoz* 2010, 1(1), 23-31.
- Wang M, Zheng Y, Khuong T, Lovatt CJ.** Developmental differences in antioxidant compounds and systems in normal and small-phenotype fruit of ‘Hass’ avocado (*Persea americana* Mill.). *Scientia Horticulturae* (Amsterdam) 2016, 206, 15–23.
- Wang H, Liu J, Li T, Liu RH.** Blueberry extract promotes longevity and stress tolerance via DAF-16 in *Caenorhabditis elegans*. *The Royal Society of Chemistry* 2018, 9(10), 5273-5282.
- White JG, Southgate E, Thomson JN, Brenner S.** The structure of the nervous system of *Caenorhabditis elegans*. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 1986, 314, 1-340.
- WHO.** WHO monographs on selected medicinal plants. *World Health Organization* 1999, 358, Geneva/Switzerland.
- WHO.** WHO monographs on selected medicinal plants. *World Health Organization* 2004, 358, Geneva/Switzerland.
- Wiegant FAC, Surinova S, Ytsma E, Langelaar-Makkinje M, Wikman G, Post JA.** Plant adaptogens increase lifespan and stress resistance in *C.elegans*. *Biogerontology* 2009, 10, 27-42.
- Wien M, Hadded E, Sabate J.** Effect of incorporating avocado in meals on satiety in healthy overweight adults. 11th European Nutrition Conference of the Federation of the European Nutrition Societies. October, 27. Madrid, Spain. 2011.
- Wojcikowski K, Gobe G.** Animal studies on medicinal herbs: predictability, dose conversion and potential value. *Phytotherapy Research* 2014, 28(1), 22-7.
- Wolbling RH, Leonhardt K.** Local therapy of herpes simplex with dried extract from *Melissa officinalis*. *Phytomedicine* 1994, 1(1), 25-31.

- Xiong XJ, Wang PQ, Li XK, Zhang YQ, Wang J.** Garlic for hypertension: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Phytomedicine* 2015, 22, 352-361.
- Verbeke P, Fonager J, Clark BFC, Rattan SIS.** Heat shock response and ageing: mechanisms and applications. *Cell Biology International* 2001b, 25, 845-857.
- Yücecan S.** Sağlıklı Yaşam Süresince Fonksiyonel Besinlerin Yeri ve Önemi. 2001, Ankara. <http://www.saglikbilimleri.hacettepe.edu.tr>.
- Zdychova J, Komers R.** Emerging role of Akt kinase/protein kinase B signaling in pathophysiology of diabetes and its complications. *Physiological Research* 2005, 54, 1-16.
- Zeraatpishe A, Oryan S, Bagheri MH, et al.** Effects of *Melissa officinalis* L. on oxidative status and DNA damage in subjects exposed to long-term low-dose ionizing radiation. *Toxicology and Industrial Health* 2011, 27, 205-212.
- Zevian SC, Yanowitz JL.** Methodological Considerations for Heat Shock of the Nematode *Caenorhabditis elegans*. *NIH Public Access* 2014, 68(3), 450-457.

ÖZGEÇMİŞ

Soyadı, Adı : SAVAŞ NAZMI
Uyruk : T.C.
Doğum yeri ve tarihi : EFELER/AYDIN - 22.03.1994
E-mail : diyetisyen_nazmi@hotmail.com
Yabancı Dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Y. Lisans	AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ (BESLENME VE DİYETETİK)	Devam ediyor
Lisans	KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ (BESLENME VE DİYETETİK)	15.06.2016

BURSLAR ve ÖDÜLLER:

xxxx

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2017-2018	ADÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü	Kısmi Zamanlı Öğr.

AKADEMİK YAYINLAR

1. MAKALELER

- Savaş N, Öğüt S, Olgun A. Toksikolojik Araştırmalarda Alternatif Bir Organizma: *Caenorhabditis Elegans (C.elegans)*. *Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*, 2018; 2(2), 53-60.

2. PROJELER

- Avokado (*Persea americana*) ve Oğulotu (*Melissa officinalis*) Fonksiyonel Besinlerinin, *Caenorhabditis elegans* Termotoleransı Üzerine Etkilerinin İncelenmesi, BAP, **Araştırmacı**, 2017- 2018 (Halen devam etmekte) - (ADÜ ve İSTİNYE ÜNİ. iş birliği ile).

3. BİLDİRİLER

A) Uluslararası Kongrelerde Yapılan Bildiriler

- **Dyt. Nazmi Savaş**, Doç. Dr. Serdal Ögüt, Glutensiz Diyetler ve Kullanılma Durumları, 7 / 2017, 1.Uluslararası Sağlık Bilimleri Kongresi. 29 Haziran - 1 Temmuz 2017, AYDIN.
[Uluslararası – Özet Bildiri].

Dyt. Nazmi Savaş, Doç. Dr. Serdal Ögüt, Nutrigenomik ve Kanseri İlişkisi, 10 / 2018, Uluslararası Tarım, Çevre ve Sağlık Kongresi. 26-28 Ekim 2018, AYDIN.
[Uluslararası – Tam Metin Bildiri].

Dyt. Nazmi Savaş, Doç. Dr. Serdal Ögüt, Stres ve Beslenme İlişkisi, 10 / 2018, Uluslararası Tarım, Çevre ve Sağlık Kongresi. 26-28 Ekim 2018, AYDIN.
[Uluslararası - Tam Metin Bildiri].

B) Ulusal Kongrelerde Yapılan Bildiriler